

VISCOSITEIT VAN BLOEDPLASMA EN -SERUM

VERGELIJKEND EXPERIMENTEEL ONDERZOEK
NAAR DE BETEKENIS VAN VISCOSITEIT EN BLOEDBEZINKING
ALS SCREENINGMETHODEN VOOR PLASMA-EIWITTEN

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE MEDISCHE FACULTEIT TI ROTTERDAM,
OP GEZAG VAN DE DEKAAN DR. J. MOLL,
HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE,
TEGEN DE BEDENKINGEN VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN
UIT DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE
TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG 31 MEI 1972 TE 16.00 UUR

DOOR

MAARTEN RUDOLF ESSEVELD

GEBOREN TE MEDAN IN 1940

1972

BRONDER-OFFSET N.V. - ROTTERDAM

PROMOTORES: PROF.DR. J. GERBRANDY
DR. H.G. VAN EYK

COREFERENTEN: PROF.DR. H.A. VALKENBURG
DR. W.F. WILTINK

Aan Thera
Aan Folkert en Henk

Dit proefschrift werd bewerkt in de afdeling Inwendige Geneeskunde I
van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt te Rotterdam
(Hoofd: Prof. dr. J. Gerbrandy)

De omslagfoto werd gemaakt door de Heer Van Nykl van de audiovisuele dienst
van de Medische Faculteit te Rotterdam.

De publicatie van dit onderzoek is mede mogelijk gemaakt door financiële steun van
de Stichting "De Drie Lichten".

I N H O U D

	pag.
HOOFDSTUK I	
Introductie en probleemstelling	13
HOOFDSTUK II	
De invloed van ziekten op de samenstelling van de plasma-eiwitten	15
1. Inleiding	15
2. De oorsprong van de plasma-eiwitten	15
3. De veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten bij ziekteprocessen	16
A. Inleiding	16
B. De eiwitten door de lever gesynthetiseerd	16
C. De eiwitten gesynthetiseerd in het reticulo-endotheliale systeem	19
4. Nabeschouwing	20
HOOFDSTUK III	
Enige methoden van "screening" op de samenstelling van plasma-eiwitten	22
1. Inleiding	22
2. De bloedbezinking	22
A. Inleiding	22
B. Factoren, die de valsnelheid van de erythrocyten beïnvloeden	23
a. Inleiding	23
b. De geldrolvorming	24
— de invloed van de samenstelling van de plasma-eiwitten	24
— andere invloeden	25
c. De invloed van de vorm en het aantal erythrocyten	26
C. De uitvoering van de meting van de bezinkingssnelheid	26
a. De bezinkingscurve	26
b. De relatie tussen de geldrolvorming en de bloedbezinking	27
c. De invloed van het anticoagulans	29
d. De invloed van de afmetingen van de bezinkingsbuis	29
e. Andere invloeden	30
D. De gedefibrineerde bloedbezinking	30
E. Conclusies	30
3. De viscositeit van plasma en serum	30
A. Omschrijving van het begrip viscositeit	30
B. De factoren, die de viscositeit van plasma en serum bepalen	35
a. Inleiding	35
b. De invloed van de vorm en de concentratie van de eiwitten	35
c. De fysisch-chemische interacties (aggregatie) van de eiwitten	40

	pag.
d. De invloed van de temperatuur	41
C. De meting en weergave van de plasmaviscositeit in de kliniek	42
D. De serumviscositeit	42
E. Conclusies	43
4. Nabeschouwing	
De bloedbezinking vergeleken met de plasmaviscositeit	43
 HOOFDSTUK IV	
De methoden van onderzoek	46
1. Inleiding	46
2. De selectie van patiënten en van de gezonde proefpersonen	46
3. De proefopstelling	48
4. De uitvoering van de chemische en fysische bepalingen	49
A. De viscositeitsbepaling van plasma en serum	49
B. De andere bepalingen	53
5. De invloed van leeftijd en geslacht op onze normale waarden	55
A. Inleiding	55
B. De normale waarden, de fout van de bepalingen en de invloed van leeftijd en geslacht	56
C. Bespreking	56
6. Samenvatting	58
 HOOFDSTUK V	
De relatie tussen de plasmaviscositeit en de bloedbezinking	60
1. Inleiding	60
2. Eigen waarnemingen	61
A. De relatie tussen de B.S.E. en de plasmaviscositeit	62
B. De invloed van de haematocriet	62
3. Waarnemingen bij twee patiënten met een hoge plasmaviscositeit	64
4. Nabeschouwing	65
5. Conclusies	65
 HOOFDSTUK VI	
Het verschil tussen plasma- en serumviscositeit als fibrinogeenbepaling	66
1. Inleiding	66
2. De vergelijking van "δV" met de uitkomsten van de fibrinogeenbepalingen volgens de "Weeg"- en de "Clauss"-methode	66
A. Eigen onderzoek	66
B. Bespreking	68
3. De invloed van de serumeiwitten op de drie methoden voor fibrinogeenbepaling	68
A. Inleiding	68

	pag.
B. Eigen onderzoek	69
C. Bespreking	70
4. Fibrinogeenbepalingen volgens de " δV "-methode bij patiënten met een paraproteïnaemie	71
A. Eigen onderzoek	71
B. Bespreking	72
5. Conclusies	73
 HOOFDSTUK VII	
De relatie tussen het verschil van plasma- en serumviscositeit (" δV ") met andere eiwitten die betrokken zijn bij de "acute phase reaction"	74
1. Inleiding	74
2. De relatie tussen " δV " en de andere "acute phase reactants"	75
A. Eigen onderzoek	75
B. De relatie tussen " δV " met respectievelijk het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine- en het haptoglobinegehalte	75
C. De relatie tussen het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine, en het haptoglobine onderling	77
D. Bespreking	77
3. De relatie tussen de "acute phase reactants" en respectievelijk het albumine- en het transferrinegehalte	78
A. Eigen onderzoek	78
B. Bespreking	78
4. Nabeschuwing	81
5. Conclusies	82
 HOOFDSTUK VIII	
De serumviscositeit en de gedefibrineerde bloedbezinking	83
1. Inleiding	83
2. De relatie tussen serumviscositeit en gedefibrineerde B.S.E.	84
A. De serumviscositeit uitgezet tegen de gedefibrineerde B.S.E.	84
B. De invloed van de haematocriet	85
C. Bespreking	86
3. De relatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. en een aantal serum-eiwitten	86
A. Eigen onderzoek	86
B. Bespreking	88
4. De gedefibrineerde B.S.E. bij patiënten met een paraproteïnaemie	88
A. Eigen onderzoek	88
B. Bespreking	90
5. De relatie tussen de serumviscositeit en een aantal serumeiwitten	91
A. Eigen onderzoek	91
B. Bespreking	92

	pag.
6. De serumviscositeit en de serumelectrophorese als maat voor het gammaglobulinengehalte	93
A. Eigen onderzoek	93
B. Bespreking	93
7. Nabeschouwing	94
8. Conclusies	95
 HOOFDSTUK IX	
De klinische betekenis van de gelijktijdige bepaling van plasma- en serumviscositeit	98
1. Inleiding	98
2. Gevoeligheid van "δV" en andere "acute phase reactants" als indicator voor weefselverval	98
A. Eigen onderzoek	98
B. Bespreking	99
3. De serumviscositeit als maatstaf van het gammaglobulinengehalte	100
A. Inleiding	100
B. Eigen onderzoek	101
C. Bespreking	101
4. Differentieel diagnostische mogelijkheden van de gelijktijdige bepaling van plasma- en serumviscositeit	102
A. De differentieel diagnostische mogelijkheden	102
B. Toetsing bij het eigen patiëntenmateriaal	104
C. Bespreking	110
5. Vergelijking van de B.S.E., de viscositeitsbepalingen en de serumelectrophorese	110
6. Nabeschouwing	112
7. Conclusies van hoofdstuk IX	112
8. Slotbeschouwing	113
 SAMENVATTING	 114
SUMMARY	119
LITERATUURLIJST	124
NASCHRIFT	130
CURRICULUM VITAE	132

LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN

Bloedbezinking	= B.S.E.
Bloedbezinking met een op 40% gecorrigeerde haematocriet	= B.S.E. gecorr.
Gedefibrineerde bloedbezinking	= gedef. B.S.E.
Gedefibrineerde bloedbezinking met een op 40% gecorrigeerde haematocriet	= gedef. B.S.E. gecorr.
Plasmaviscositeit	= P.V.
Serumviscositeit	= S.V.
Het verschil tussen de viscositeit van plasma en serum	= δV
Het reticulo-endotheliale systeem	= R.E.S.
De fibrinogeenbepaling volgens de weeg-methode	= de Weeg-methode
De fibrinogeenbepaling volgens de methode van Clauss	= de Clauss-methode
Fibrinogeen	= Fibr.
Totaal eiwit	= T.E.
Albumine	= Alb.
α_1 -globulinen	= α_1 -glob.
α_2 -globulinen	= α_2 -glob.
β -globulinen	= β -glob.
γ -globulinen	= γ -glob.
Transferrine	= Transf.
α_1 -zure glycoproteïne	= α_1 -z glyc.
α_1 -antitrypsine	= α_1 -antitr.
Haptoglobine	= Haptogl.
Immuunglobuline-G	= IgG
Immuunglobuline-A	= IgA
Immuunglobuline-M	= IgM
Centistokes	= cst.
Correlatiecoëfficiënt	= r
Steekproef fractie	= p
Standaarddeviatie	= S.D.

HOOFDSTUK I

INTRODUCTIE EN PROBLEEMSTELLING

In de huidige geneeskunde bestaat de neiging bij de clinicus om zich vooral te richten naar gegevens, die verkregen zijn m.b.v. geavanceerde vaak dure technieken. Het tijdperk waarin de medicus zijn wetenschappelijke interesse meer op veel gebruikte eenvoudiger laboratoriummethoden richtte, lijkt afgesloten. Eén van de problemen, die veel onderzoekers in het verleden heeft beziggehouden zijn de uiteenlopende veranderingen in het eiwitspectrum bij verschillende ziekten en daarmee nauw samenhangend welke screeningmethode deze veranderingen op de eenvoudigste en nauwkeurigste wijze weergaf. De meest gebruikte methode in de praktijk is de bloedbezinking, die door Fahreus in 1921 werd geïntroduceerd. De plasmaviscositeit zou volgens T'Ang en Wang (1940) een betere methode zijn om de activiteit van een ziekteproces te vervolgen; o.a. door zijn grotere nauwkeurigheid en het feit, dat hij van minder factoren buiten de plasma-eiwitten afhankelijk is. Een gegeven dat door andere auteurs bevestigd werd (Miller 1942, Harkness 1946 en 1963, Houston 1948, Woodmansey 1948). Ondanks deze positieve bevindingen voor de plasmaviscositeit is deze bepaling géén gangbare methode in de praktijk geworden: iets wat ons inziens ten onrechte is en de verklaring vormt voor het ontstaan van deze studie.

De eerste vraag, die wij in dit onderzoek stelden was niet welke methode de bloedbezinking of de plasmaviscositeit het beste de activiteit van een ziekte weergeeft, maar welke van de twee methoden de meeste informatie over de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum verstrekt. Hierbij zullen wij vergelijken de gelijktijdige bepaling van de plasma- en serumviscositeit met die van de bloedbezinking en gedefibrineerde bloedbezinking. De plasmaviscositeit en bloedbezinking alléén geven in het geheel geen inzicht in de aard van de veranderingen van het eiwitspectrum; de serumviscositeit (Lawrence 1950, Hellendoorn en Gerbrandy 1961) en de gedef. B.S.E. (Groen 1953) daarentegen zouden wel een maat zijn voor het globulinen- en dan speciaal het γ -globulinegehalte.

Behalve dat de serumviscositeit een indicator is voor het globulinegehalte, heeft men in het verschil tussen de viscositeit van plasma en serum ("δV") een

maat voor het fibrinogeengehalte (Petersen 1953, Hellendoorn en Gerbrandy 1961). Enigszins los van de eerste vraagstelling zullen wij nagaan in hoeverre deze "δV" een bruikbare fibrinogeenbepaling is en tevens zoeken naar een verklaring voor de bevinding van Petersen (1953), dat de viscositeitsbepaling als maat voor het fibrinogeen onbetrouwbaar is bij patiënten met een multiple myeloma. Verder zal de relatie tussen "δV" en andere "acute phase reactants" * zoals het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine, het haptoglobine worden onderzocht. In sommige klinieken gebruikt men de bepaling van een "acute phase reactant" inplaats van de bloedbezinking als indicator voor de activiteit van het ziekteproces.

Deze studie valt uiteen in een theoretisch en experimenteel gedeelte. De hoofdstukken II en III gaan over de veranderingen in het eiwitspectrum bij verschillende ziekteprocessen en over de theoretische basis van respectievelijk de bloedbezinking en de plasmaviscositeit. De overige hoofdstukken beschrijven de resultaten en de conclusies van onze eigen onderzoeken. De eindconclusie van ons onderzoek is, dat de gelijktijdige bepaling van de plasma- en serumviscositeit een eenvoudige en zeer nauwkeurige methode is, die aanzienlijk meer inzicht geeft in de aard van de veranderingen van het eiwitspectrum dan de bloedbezinking en gedefibrineerde bloedbezinking.

* Onder "acute phase reactants" verstaan wij een groep plasma-eiwitten, die op een ziekteproces met weefselverval reageren met een stijging van hun gehalte in het plasma.

HOOFDSTUK II

DE INVLOED VAN ZIEKTEN OP DE SAMENSTELLING VAN DE PLASMA-EIWITTEN

1. INLEIDING

De reden waarom dit proefschrift begint met een overzicht over de veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten bij ziekten, is dat deze veranderingen de basis vormen voor het klinisch gebruik van de bloedbezinking, de plasmaviscositeit en de serumelectrophorese.

Het is de bedoeling deze veranderingen te beschrijven vanuit de twee organen, die het grootste aandeel in de synthese van plasma-eiwitten hebben; de lever en het reticulo-endotheliale systeem (R.E.S.). Dit omdat b.v. de reactie van de lever op weefselverval anders is dan die van het R.E.S.

Weefselverval is een Nederlandse vertaling van "tissue injury". Het is niet geheel duidelijk wat men onder "tissue injury" moet verstaan. Het begrip is van toepassing op ziekten, zoals infectieziekten, reumatoïde arthritis en maligniteiten waarvan aangenomen wordt, dat er weefsel tijdens het ziekteproces versneld ten gronde gaat.

2. DE OORSPRONG VAN DE PLASMA-EIWITTEN

Reeds lang bestonden er indirecte aanwijzingen, dat het grootste deel van de plasma-eiwitten gemaakt wordt door de lever. Onderzoekingen van Miller in 1954 naar de biosynthese van de plasma-eiwitten door de lever en het R.E.S. toonden dit experimenteel aan.

Bij perfusieproeven van vers geïsoleerde ratteleveren zag hij, dat de aan het perfusiemedium toegevoegde ^{14}C lysine label in alle eiwitfracties, uitgezonderd de gammaglobulinenfractie, was geïncorporeerd. Dit in tegenstelling tot perfusie van het rattenkarkas, waarbij de lever niet mee-geperfundeerd werd en het ^{14}C lysine voor het grootste deel in de gammaglobulinenfractie werd gevonden.

Er was nauwelijks radioactiviteit in de α - en β -globulinen te vinden. Miller concludeerde uit zijn onderzoeken in de eerste plaats, dat de lever het grootste deel van de plasma-eiwitten en wel het albumine, de α - en β -globulinen synthetiseerde. Ten tweede, dat de gammaglobulinen niet door de lever, maar waarschijnlijk door het R.E.S. worden gemaakt.

Na 1950 zijn er een groot aantal onderzoeken verricht over de synthese van specifieke eiwitten door de lever of door het R.E.S. Op grond van deze onderzoeken kan men volgens Schulze en Heremans (1966) zeggen, dat het albumine, α_1 -zure glycoproteïne, C-reactieve proteïne, α_1 -antitrypsine, haptoglobine, transferrine, α_2 -macroglobuline en het fibrinogeen voor meer dan 90% door de lever worden gemaakt.

De drie quantitatief belangrijkste gammaglobulinen IgG, IgA en IgM worden door het R.E.S. gemaakt. Op het ogenblik neemt men aan, dat het IgG, IgA en IgM door voorstadia van de plasmacel worden gesynthetiseerd (Gell 1968).

3. DE VERANDERINGEN IN DE SAMENSTELLING VAN DE PLASMA-EIWITTEN BIJ ZIEKTEPROCESSEN

A. Inleiding

Bij de infectieziekten onderscheidde Odenthal (1958) twee soorten ontstekingsreacties; de primaire en de secundaire. Tot de primaire ontstekingsreacties rekende hij, behalve de koorts en leucocytose, de snel optredende veranderingen in de door de lever gevormde plasma-eiwitten. Van ouds bekend is de stijging van het fibrinogeen gehalte. De na ongeveer negen dagen optredende stijging van het gammaglobuline gehalte rekende hij tot de secundaire ontstekingsreactie.

Deze indeling, die op een tijdsrelatie is gebaseerd, gaat volgens Belfrage (1963) alleen op bij de bacteriële infectieziekten. Zo ontstaan bij de virale infectieziekten de primaire en secundaire ontstekingsreacties zonder tijdsinterval (Belfrage 1963). Beter is het om de termen primaire en secundaire ontstekingsreactie niet te gebruiken.

De primaire ontstekingsreactie kan men beter de reactie van de lever op een ziekteproces met weefselverval noemen (Mac. Farlane 1962). Een term, die aangeeft dat deze reactie aspecifiek is en bij iedere oorzaak van weefselverval kan ontstaan (Owen 1967). De secundaire reactie is een "reactie op antigeen", hetgeen aangeeft, dat er een endogeen of exogeen antigeen aanwezig moet zijn in het lichaam, alvorens er een reactie van het lymphoïde apparaat ontstaat met als resultaat een stijging van het gammaglobuline gehalte.

B. De eiwitten door de lever gesynthetiseerd

Bij weefselverval zien wij de volgende veranderingen in de door de lever gemaakte serumeiwitten (Owen 1967):

1. een daling van het albuminegehalte.
2. een stijging van het α_1 -globulinegehalte.
3. een stijging van het α_2 -globulinegehalte.
4. meestal géén wijziging van het β -globulinegehalte.

Deze veranderingen in het eiwitspectrum zijn bij een groot aantal ziekteprocessen beschreven: o.a. bij tuberculose door Lawrence (1961), bij carcino-mata door Seibert (1947), bij acute infecties door Blix (1939) en door Belfrage (1963), bij rheumatoïde arthritis door Ropes (1953) en bij het myocard infarct door Belfrage (1963). De belangrijkste overeenkomst van deze ziekten is dat men aanneemt, dat er weefselverval bij aanwezig is.

Behalve de daling van het albuminegehalte weten wij dat er ook een daling van het transferrinegehalte is (Cartwright and Wintrobe 1949). Het transferrine vormt ongeveer 30% van de β -globulinen. Het feit, dat het β -globulinegehalte niet verandert bij ziekten met weefselverval moet worden toegeschreven aan een gelijktijdige stijging van andere componenten van de β -globulinengroep (Owen 1967).

De voor weefselverval zo kenmerkende stijging van het α_1 - en α_2 -globulinegehalte is voor het grootste deel het gevolg van de stijging van een aantal glycoproteïnen;* en wel het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine en het haptoglobine. Deze eiwitten rekent men met het C-reactieve proteïne, het ceruloplasmine en ook het fibrinogeen tot de "acute phase reactants" (Schulze en Heremans 1966). Een "acute phase reactant" kan men definiëren als een eiwit, dat op weefselverval reageert met een stijging van zijn gehalte in het plasma. Als zodanig wordt de bepaling van zo'n eiwit in de praktijk gebruikt als maatstaf voor het bestaan van weefselverval.

Van deze eiwitten is het C-reactieve proteïne als "acute phase reactant" het uitvoerigste onderzocht door o.a. Hedlund (1961). Het eiwit werd in 1930 door Tillet en Francis ontdekt. Deze zagen een precipitatiereactie van het serum van een pneumonie patiënt met het pneumococcal-C-polysaccharide. Zij dachten aanvankelijk een antilichaam te hebben gevonden, totdat bleek, dat deze precipitatiereactie gezien werd bij iedere infectieziekte en dan alleen in de "acute phase". Hedlund toonde in 1961 aan, dat het C-reactieve proteïne bij iedere ziekte met weefselverval aantoonbaar was. Een aantal onderzoekers o.a. Crockson (1966) beschouwden het C-reactieve proteïne als de in de praktijk bruikbaar-

* De α -globulinen worden door vele auteurs ook wel de glycoproteïnen genoemd. Schulze en Heremans (1966) schrijven in hun boek hoe verwarrend de term glycoproteïnen is. In principe is een glycoproteïne een eiwit, dat koolhydraat bevat, hetgeen zou inhouden, dat ieder plasma-eiwit, behalve het albumine, een glycoproteïne is. Zij adviseren dan ook de term glycoproteïnen te gebruiken voor die eiwitten van de α -globulinenfractie, die een hoog koolhydraatgehalte hebben. Zo bevatten het α_1 -zure glycoproteïne 41,4%, het α_1 -antitrypsine 12,4% en het haptoglobine 19,3% koolhydraten. In vergelijking daarmee is het koolhydraatgehalte van transferrine 5,8%, van fibrinogeen 2,5% en van het IgG 2,9% laag te noemen.

ste maat voor het bestaan van weefselverval. Dit vooral omdat met de tot dan toe gebruikte bepalingmethoden* het C-reactieve proteïne niet aantoonbaar was bij gezonde mensen. Sinds er een gevoeliger methode voor de bepaling van het C-reactieve proteïne op immunochemische wijze door Nilsson (1968) werd gepubliceerd, weten wij, dat dit eiwit in zeer lage concentraties bij gezonde mensen ook aantoonbaar is. Het vermeende feit, dat het C-reactieve proteïne alleen tijdens een ziekteproces door de lever gevormd zou worden is niet waar, zodat dit eiwit zich in principe niet onderscheidt van de overige "acute phase reactants".

De veranderingen in het eiwitspectrum als gevolg van weefselverval treden snel na het ontstaan van weefselverval op. Zo vond Bachmann (1968) bij patiënten met een hartinfarct 24 uur na het infarct reeds duidelijke veranderingen. Overeenkomstige bevindingen hadden Werner (1967) en Crockson (1966) bij operatiepatiënten. De tijdsrelatie tussen het begin van het weefselverval en de veranderingen in het eiwitspectrum onderzocht Belfrage in 1963 met intraveneuze endotoxine injecties. Van endotoxine is bekend, dat het dezelfde veranderingen in het eiwitspectrum als weefselverval geeft. Belfrage zag het gehalte van de α -globulinen en het fibrinogeen 12 uur na de endotoxine toediening stijgen.

Over het verband tussen de mate van weefselverval en de veranderingen die in het eiwitspectrum optreden is niet veel bekend. Het probleem is, dat er géén andere objectieve maat dan de veranderingen in de plasma-eiwitten bekend is voor de mate van weefselverval. Uit klinische ervaring weten wij, dat in het algemeen uitgebreide ziekteprocessen grotere afwijkingen, b.v. een hogere bloedbezinking geven dan ziekteprocessen van geringe uitbreiding. Zo vond Belfrage (1963) bij ernstige langdurig bestaande pneumococcale pneumoniën plasma-eiwit veranderingen, die langer bestonden en quantitatief meer uitgesproken waren dan van de minder ernstige pneumoniën.

Bij een onderzoek met cavia's, die besmet waren met tuberculose zag Nishihara (1958) gedurende de eerste 15 dagen na de besmetting een snelle stijging van het glycoproteïnegehalte. Na deze 15 dagen, ondanks een verdere uitbreiding van het ziekteproces, steeg het glycoproteïnegehalte niet verder. Dit onderzoek toont aan, dat er een limiet van de lever is om op weefselverval te reageren. Het is waarschijnlijk, dat deze limiet bij de mens ook zal bestaan. De veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten zullen slechts over een bepaald traject een maat zijn voor weefselverval, of met andere woorden voor de ziekte activiteit.

Hoe die veranderingen in de door de lever gesynthetiseerde plasma-eiwitten bij weefselverval ontstaan zijn is tot nu toe niet bekend (Owen 1967). De verklaring van Gersh en Catchpole (1949), dat de stijging van de glycoproteïnen het gevolg was van het vrijkomen van eiwitafbraakproducten uit de grondsubstantie

* Deze methoden zijn de niet-specifieke capsulaire zwellingsreactie van Löfstrom en de tubemethode van Mc. Lead-Avery.

is inmiddels achterhaald. Wij weten nu dat de glycoproteïnen gesynthetiseerd worden door de lever, en dat de veranderingen in het eiwitspectrum alleen mogelijk zijn bij aanwezigheid van de lever.

Onafhankelijk van de wijze waardoor de veranderingen ontstaan, vonden vele auteurs een samenhang tussen de mate van de stijging van de verschillende "acute phase reactants". Zo vond Rice (1960) een positieve correlatie tussen het C-reactieve proteïne- en het glycoproteïnegehalte en benevens in 1961 tussen het C-reactieve proteïne en het ceruloplasmine. In 1966 vond Crockson dit verband tussen het C-reactieve proteïne, fibrinogeen, haptoglobine en het α_1 -zure glycoproteïne. Een negatieve correlatie werd door Seibert in 1947 gevonden tussen het albumine en het serum polysaccharidgehalte.

Bovengenoemde experimenten suggereren, dat er een verband bestaat tussen de mate van weefselverval, de stijging van de "acute phase reactants" en de daling van het albuminegehalte.

Concluderend kan men over de veranderingen in de door de lever gesynthetiseerde plasma-eiwitten bij weefselverval zeggen, dat:

1. Deze veranderingen bij iedere vorm van weefselverval te zien zijn en daarom geen differentieel diagnostische betekenis hebben.
2. De veranderingen snel (12 tot 24 uur) na het ontstaan van weefselverval optreden.
3. Er waarschijnlijk een positieve correlatie bestaat tussen de omvang van de weefselnecrose en de mate van de veranderingen in het eiwitspectrum.
4. Dierexperimenten suggereren, dat er een limiet bestaat van de reactie van de lever op weefselverval.
5. Gezien het verband tussen de mate van weefselverval en de veranderingen in het eiwitspectrum, bepalingmethoden, die deze veranderingen in een getal uitdrukken, een maat kunnen zijn voor de activiteit van het ziekteproces.

C. De eiwitten gesynthetiseerd in het reticulo-endotheliale systeem

Het R.E.S. reageert niet zo zeer op weefselverval, maar op de aanwezigheid van een antigeen. Als reactie op de aanwezigheid van antigeen treedt productie van antilichaam op, hetgeen kan resulteren in een stijging van het gammaglobulinegehalte. De quantitatief belangrijkste gammaglobulinen zijn het IgG, IgA en IgM. Zij zijn een heterogene groep eiwitten, die van elkaar verschillen wat betreft hun primaire structuur, antigene determinanten, molecuulmassa, koolhydraatgehalte en metabole eigenschappen.

In de kliniek maakt men onderscheid in twee typen hypergammaglobulinaemie: de monoclonale en polyclonale hypergammaglobulinaemie. Zij hebben een verschillende diagnostische betekenis.

Bij de monoclonale hypergammaglobulinaemie is er een toename van een homogeen eiwit product: een paraproteïne. Men neemt aan, dat dit eiwit ge-

maakt wordt door één cellijn. Een paraproteïne wordt gevonden bij een aantal maligne ziekteprocessen, zoals multiple myeloma en de macroglobulinaemie van Waldenström. Ook is hij beschreven bij benigne aandoeningen, b.v. reumatoïde arthritis.

De polyclonale hypergammaglobulinaemie kenmerkt zich door een stijging van niet aan elkaar gelijke gammaglobulinen. Hij werd beschreven bij een groot aantal ziekteprocessen: o.a. chronische infectieziekten, reumatoïde arthritis, lupus erythematoses, sarcoïdosis en een aantal maligne reticulo-endotheliale ziekteprocessen, zoals b.v. de Morbus Hodgkin (Tomasi 1965, Mc. Kelvey 1965).

Een belangrijke vraag uit differentieel diagnostisch gezichtspunt is of ziekteprocessen waarvan men aanneemt, dat het R.E.S. niet sterk geprikkeld wordt, zoals b.v. het hartinfarct en carcinomata, ook een stijging van de gammaglobulinen te zien geven. Bij het hartinfarct vonden Belfrage (1963), Witas (1955) en Linko (1956) geen overtuigende stijging van de gammaglobulinen. Van de 193 patiënten met een gemetastaseerd carcinoom hadden 87 patiënten een gammaglobulinengehalte binnen het normale gebied en 16 patiënten een verhoogd gammaglobulinengehalte (Brackenridge 1962). Dit in tegenstelling tot 25 patiënten met een chronische reumatoïde arthritis en 25 patiënten met een chronische infectieziekte, waar respectievelijk bij 8 en 7 patiënten gammaglobulinewaarden binnen het normale gebied gevonden werden. Al deze patiënten vertoonden tevens de reactie op weefselverval. Uit dit onderzoek kan men concluderen, dat het gelijktijdig vinden van een reactie op weefselverval en een verhoogd gammaglobulinengehalte de diagnose carcinoom minder waarschijnlijk maakt, doch niet geheel uitsluit.

Behalve dat bepaalde ziekten gekenmerkt worden door een verhoogd gammaglobulinengehalte, zijn er ziekten met een verlaagd gammaglobulinengehalte. Te noemen zijn de aangeboren vormen van a-gammaglobulinaemie en verworven ziekten als b.v. de chronische lymfatische leucaemie en het nefrotisch syndroom.

4. NABESCHOUWING

Er blijkt uit het voorafgaande, dat men op grond van de veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten bij ziekteprocessen geen diagnose kan stellen. Wel heeft het vinden van een afwijkend gammaglobulinengehalte een zekere diagnostische betekenis en kan men bij het vinden van een verhoogd α_1 - en α_2 -globulinengehalte zeggen, dat er sprake is van een ziekteproces met weefselverval.

Een bepaling, die de veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten bij weefselverval meet is een indicator voor het bestaan en de activiteit van een ziekteproces met weefselverval. Als zodanig worden in de kliniek de bloedbezinking, de plasmaviscositeit en de quantitative bepaling van een "acute phase reactant" gebruikt.

De gedefibrineerde bezinking wordt wel gebruikt als maat voor de globulinen en dan vooral het gammaglobulinengehalte. In het volgende hoofdstuk zullen wij de theoretische achtergronden van de bloedbezinking en de plasmaviscositeit bespreken.

HOOFDSTUK III

ENIGE METHODEN VAN "SCREENING" OP DE SAMENSTELLING VAN DE PLASMA-EIWITTEN

1. INLEIDING

In het vorige hoofdstuk hebben wij de veranderingen in de samenstelling van plasma-eiwitten besproken. Hier zullen wij ingaan op de theoretische achtergronden van enige methoden, die in de kliniek worden gebruikt om deze veranderingen te objectiveren. Met name zullen wij ingaan op de bloedbezinkingssnelheid en de viscositeit van plasma en serum. De laatste methode heeft ons inziens te weinig aandacht gekregen in de kliniek en het laboratorium.

Een overeenkomst tussen beide methoden is, dat zij snel uitvoerbaar en gemakkelijk in een getal uit te drukken zijn. De B.S.E. heeft echter enkele nadelen t.o.v. de viscositeit, die in de volgende paragrafen zullen worden besproken.

2. DE BLOEDBEZINKING

A. Inleiding

De *bloedbezinking* kan men karakteriseren als een eenvoudige sedimentatieproef met een suspensie waarvan de gesuspendeerde erythrocyten deeltjes de neiging hebben om te aggregeren. Hij wordt bepaald in een vertikaal staande buis; de valsnelheid van de meer of minder geaggregeerde erythrocyten wordt meestal per uur uitgedrukt.

Deze aggregatie neiging van de erythrocyten wordt geldrolvorming (synoniemen: agglomeratie- en rouleaux-vorming) genoemd. Het is een reeds lang bekend verschijnsel. Zo beschreef Nasse het in zijn leerboek over "Das Blut" in 1836. Het was echter Fahreus in 1921, die dit fenomeen uitvoerig beschreef en het in verband bracht met de bezinkingssnelheid der erythrocyten. Onder de geldrolvorming verstaat men de neiging van erythrocyten om zich met de vlakke zijde tegen elkaar te leggen. De geldrolvorming is in tegenstelling tot erythrocy-

ten agglutinatie een reversibel proces.

De bloedbezinkingssnelheid wordt vooral bepaald door de grootte van de gevormde geldrollen. Het verband tussen de geldrolvorming en de valsnelheid van de erythrocyten is te begrijpen uit de Wet van Stokes. Deze wet en een aantal factoren, die van belang zijn voor de valsnelheid van de erythrocyten zullen wij bespreken in paragraaf B. Tenslotte zullen wij in paragraaf C ingaan op de uitvoering van de bloedbezinking. Paragraaf D handelt over de betekenis van de gedef. B.S.E.

B. Factoren, die de valsnelheid van de erythrocyten beïnvloeden

a. INLEIDING

De valsnelheid van een rond deeltje in een vloeistofmedium is vastgelegd in de Wet van Stokes.

Deze is als volgt:

$$v = \frac{2}{9} \frac{(D-d)g}{\eta} r^2$$

waarbij v is de valsnelheid in cm per seconde.
 D is de soortelijke massa van het deeltje (g/ml).
 d is de soortelijke massa van het medium (g/ml).
 g is de zwaartekracht (m/sec).
 η is de viscositeit in poise $\frac{(\text{dyn} \times \text{sec})}{\text{cm}^2}$ of $\frac{(0.1 \text{ N} \times \text{sec})}{\text{m}^2}$.
 r is de straal van het deeltje in (cm).

Uit deze formule volgt, dat er nooit sprake kan zijn van enig uitzakken, wanneer er geen verschil in soortelijke massa is tussen het deeltje en het medium. Verder is de valsnelheid recht evenredig met het kwadraat van de straal van de gesuspendeerde deeltjes en omgekeerd evenredig met de viscositeit van het medium.

De Wet van Stokes geldt bij benadering voor een bloedsuspensie in een bezinkingsbuis. In wezen gaat hij alleen op voor gladde, onvervormbare ronde deeltjes. De erythrocyten en erythrocyten geldrollen zijn wel glad, doch zeker niet rond en onvervormbaar te noemen. Verder moeten afmetingen van het medium en de ruimte (hier de bezinkingsbuis) oneindig groot zijn in verhouding tot de deeltjes. Aan de laatste voorwaarde wordt ook niet voldaan. Dit laatste feit heeft voor de bepaling van de bloedbezinking praktische gevolgen, die in paragraaf C van dit hoofdstuk zullen worden toegelicht. Een uitgebreide theoretische beschouwing over het mechanisme van de geldrolvorming valt buiten het bestek van dit onderzoek. Hiervoor verwijzen wij naar de monografie van Thygesen 1942 over dit onderwerp.

Met bovengenoemde beperkingen betreffende de toepasbaarheid van de Wet van Stokes op de bloedbezinking voor ogen is de straal of beter de grootte van de gevormde geldrollen de belangrijkste factor. Naarmate de geldrollen groter zijn, zal de valsnelheid toenemen. De belangrijkste factor, die de neiging tot aggregatie van de erythrocyten bepaalt, is de samenstelling van de plasma-eiwitten (Fahreus 1921). Deze invloed zullen wij bespreken in paragraaf B-b. Behalve de invloed van de plasma-eiwitten op de geldrolvorming zijn er een groot aantal minder belangrijke factoren, die wij in paragraaf B-c zullen bespreken.

De viscositeit van het medium zal de valsnelheid van de gesuspendeerde deeltjes remmen. Voor toepassing van de Wet van Stokes op bloed moet men de viscositeit van het gehele bloed en niet van plasma nemen (Cunningham 1910 en Thygesen 1942). De viscositeit van bloed is behalve van de viscositeit van het plasma sterk afhankelijk van het aantal erythrocyten. Door de bloedviscositeit in de noemer van de Wet van Stokes in te vullen kan men de invloed van het aantal erythrocyten op de bloedbezinking verklaren. In paragraaf B-d wordt ingegaan op de invloed van het aantal erythrocyten en de vorm van de erythrocyten op de bloedbezinking.

b. DE GELDROLVORMING

De invloed van de samenstelling van de plasma-eiwitten

De belangrijkste bepalende factor voor de geldrolvorming is de samenstelling van de plasma-eiwitten. Fahreus toonde dit in 1921 aan door erythrocyten uit bloed met een verhoogde en een normale B.S.E. onderling te verwisselen. Hij zag alleen een verhoogde B.S.E. in het plasma van het snel bezinkende bloed ontstaan, dus onafhankelijk van de erythrocyten.

Van de plasma-eiwitten doet vooral het fibrinogeen en in mindere mate de globulinenfractie de B.S.E. toenemen. Albumine had geen effect, integendeel, zoals Zarday en Farkas in 1931 demonstreerden, doet toevoeging van albumine aan een bloedmonster de B.S.E. dalen.

De invloed van de plasma-eiwitten op de B.S.E. is ingewikkelder dan boven beschreven is. Hij is afhankelijk van de onderlinge verhouding in concentratie die de plasma-eiwitten ten opzichte van elkaar hebben. Een goede demonstratie van de complexe beïnvloeding van de plasma-eiwitten op de B.S.E. was het onderzoek van Gordon en Wardley in 1943, die met behulp van een aantal door uitzouting verkregen eiwitfracties kunstmatige plasma's opbouwden en de B.S.E. bepaalden van suspensies van erythrocyten met deze plasma's (zie tabel I).

In de tot nu toe beschreven onderzoeken maakte men gebruik van vooral door uitzouting verkregen eiwitten. In 1960 was men in staat een aantal plasma-eiwitten in redelijk gezuiverde vorm te verkrijgen. Zo bestudeerde Ruhenstroth-Bauer in 1962 een aantal geïsoleerde plasma-eiwitten opgelost in fysiologisch zout of plasma, om zo een indruk te krijgen hoe de eiwitten op zich

Tabel I. Valsnelheid van menselijke erythrocyten gesuspenderd in oplossingen van fibrinogeen gemengd met gelijke hoeveelheden van andere eiwitfracties. (Overgenomen uit Gordon en Wardley 1943).

Eiwitmengsel Concentratie 3 g/100 ml	B.S.E. in mm eerste uur
Fibrinogeen	100
Fibrinogeen + keukenzout	40
Fibrinogeen + totaal globulinen	60
Fibrinogeen + euglobulinen	75
Fibrinogeen + pseudoglobulinen	30
Fibrinogeen + albumine	4,6

de B.S.E. beïnvloeden.

Uit haar onderzoek bleek, dat een oplopende concentratie van fibrinogeen, haptoglobine en ceruloplasmine de B.S.E. deed toenemen, zowel opgelost in fysiologisch zout als in normaal plasma.

Albumine, transferrine, α_1 -zure glycoproteïne en de 7-S-gammaglobulinen hadden geen effect op de B.S.E. Opmerkelijk was het dat de 7-S-gammaglobulinen (of IgG) toevoeging geen effect had op de B.S.E., ondanks de hoge molecuulmassa van het IgG (160.000). Dit gezien de relatie van de molecuulmassa van de plasma-eiwitten en het effect op de B.S.E. De grotere invloed van de groot moleculaire serumeiwitten demonstreerde Ruhenstroth-Bauer (1962) door aan erythrocyten serumfracties toe te voegen, die op moleculaire basis waren gescheiden door ultracentrifuge. De erythrocytensuspensies met de groot moleculaire eiwitten hadden steeds een aanzienlijk hogere B.S.E.

Andere invloeden

Er zijn een groot aantal stoffen beschreven, die een invloed op de geldrolvorming hebben. Zo beschreven Rourke en Plass in 1929 een remmende werking van een aantal zouten, en wel fluoriden, oxalaten en citraten, op de geldrolvorming.

Ook de galzure zouten zouden de B.S.E. remmen. Alexander (1924) vond dat in vitro toevoeging van duodenaal vocht aan een bloedsuspensie resulteerde in een lagere B.S.E. Dezelfde waarneming deed Radosavljevic (1932) in vivo; na intraveneuze toediening van galzure zouten bij patiënten met een verhoogde B.S.E. zag hij gedurende enige uren een daling van de B.S.E..

Van een aantal *antipyretische medicamenten* is bekend, dat deze ook een remmend effect hebben op de B.S.E.. Dit beschreef Bendien in 1932 voor natrium salicylaat bij een in vitro proef. Later werd hetzelfde beschreven voor butazolidine, gentsine zuur, cortison en chloroquine (Ruhenstroth-Bauer 1960). Bij intraveneuze toediening van butazolidine aan konijnen zag Ruhenstroth-Bauer (1961) in vivo een tijdelijke daling van de B.S.E..

c. DE INVLOED VAN DE VORM EN HET AANTAL ERYTHROCYTEN

Hoewel een hoge B.S.E. vooral ontstaat bij bepaalde veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten, is het niet zo, dat de erythrocyt voor de geldrolvorming niet van belang is. Zowel de normale als de afwijkend gevormde erythrocyten zijn factoren, die de mate van de geldrolvorming mee bepalen. Het belangrijke modificerende effect van het aantal erythrocyten op de B.S.E., komt door de invloed, die het aantal erythrocyten op de bloedviscositeit heeft.

De uiteindelijke geldrolvorming is mede afhankelijk van de onderzochte normaal gevormde erythrocyt. Dit toonde Ruhenstroth-Bauer (1960) aan door O-erythrocyten van 5 gezonde mannen in dezelfde verhouding toe te voegen aan plasma van één patiënt met een hoge B.S.E.. Zij vond een grote spreiding van de B.S.E.-waarden. Overeenkomstige bevindingen hadden onderzoekers, die erythrocyten van gezonde proefpersonen mengden met een hoog visceuze standaardoplossing, zoals van Dextran (Eastham 1957) en van fibrinogeen (Hasché 1954).

In 1858 stelde Lister, dat de schijfvorm de belangrijkste factor was voor de geldrolvorming. Bolvormige erythrocyten hebben minder contactmogelijkheden en kunnen geen geldrollen vormen. Zo komt het verschijnsel, dat de B.S.E. van een erythrocytensuspensie na enige dagen bewaren lager wordt, omdat de erythrocyten door het bewaren bolvormig worden.

Voor de praktijk is het aantal erythrocyten belangrijker dan de vorm van de erythrocyten. Een verhoging van het aantal erythrocyten geeft een lagere, een daling van het aantal, een hogere B.S.E.. Daar de B.S.E. gebruikt wordt om een indruk te krijgen over het bestaan van bepaalde veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten, is deze invloed storend voor de interpretatie van de B.S.E. Vandaar dat een aantal auteurs, zoals Gram (1928) en Rourke (1930) nogal ingewikkelde systemen ontwikkelden om de B.S.E. op één haematocriet te corrigeren. De invloed, die de haematocriet heeft op de B.S.E. is een groot bezwaar bij het klinisch gebruik van de B.S.E..

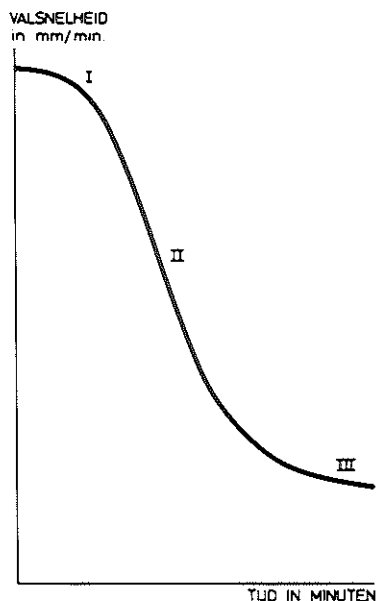
C. De uitvoering van de meting van de bezinkingssnelheid

a. DE BEZINKINGSCURVE

Als men de B.S.E. meet om de drie minuten krijgt men de bezinkingscurve (zie figuur I). De curve heeft een S-vorm. Men onderscheidt drie fasen (zie o.a. Thygesen 1942).

Phase I: de pré-agglutinatie phase kenmerkt zich door een langzame bezinkingssnelheid. Deze phase is het kortst in pathologische bloedmonsters met een sterke neiging tot geldrolvorming.

Phase II: de agglutinatie phase met een snel uitzakken van de gevormde geldrollen.



Figuur 1. De bezinkingscurve.

- I = pré-agglutinatiëphase
- II = agglutinatiëphase
- III = "packing"-phase

Phase III: de "packing"-phase, waarin de bezinkingssnelheid weer afneemt door een verdichting van de erythrocyten populatie. Dit punt wordt bereikt in de buurt van het "packed-cell volume".

Bij het weergeven van de B.S.E. in de één uurs waarde, wordt deze vaak beïnvloed door phase III. Vandaar dat de B.S.E. het betrouwbaarste te meten is in phase II (Swedin 1936).

b. DE RELATIE TUSSEN DE GELDROLVORMING EN DE BLOEDBEZINKING

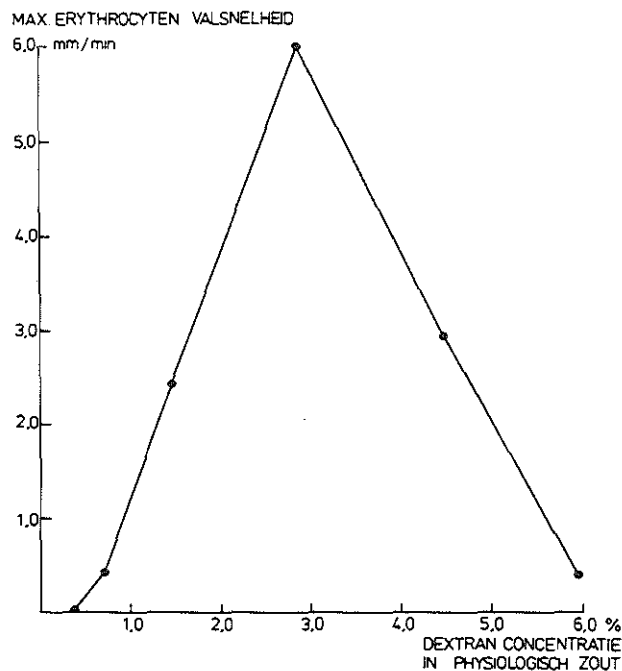
Er is reeds enige malen gewezen op de invloed, die de geldrolvorming heeft op de B.S.E. Naarmate de geldrollen groter zijn is de B.S.E. hoger. Ter illustratie tabel II overgenomen uit Fahreus (1921).

Bij het bepalen van de werkelijke relatie tussen de geldrolvorming en de B.S.E. is een praktisch probleem, dat de geldrolvorming moeilijk in één getal is weer te geven. Eén van de onderzoekers, die dit verband indirect onderzocht was Eastham (1954). Deze vond bij een aantal patiënten met een hyperviscositeits-

Tabel II. De invloed van de geldrolvorming op de B.S.E.

Geldrolvorming	Aantal erythrocyten per geldrol	Bezinkings- snelheid
geen	1	0,2 mm/uur
weinig	11	1 mm/uur
zeer intens	58.000	75 mm/uur

syndroom een lage B.S.E. in de orde van grootte van 10 tot 30 mm. Men zou, juist gezien de sterke geldrolvorming in deze plasmamonsers, een zeer hoge B.S.E. verwachten. Hierna bekeek hij de B.S.E.-waarden van erythrocyten gesuspendeerd in dextranoplossingen met oplopende concentraties; dit zal steeds grotere geldrollen geven. Aanvankelijk werd de B.S.E. hoger, maar na een dextranconcentratie hoger dan 3 g/100 ml weer lager. Het verband tussen de dextranconcentratie en de bloedbezinking geven wij in figuur 2.



Figuur 2. De maximale valsnelheid van rode cellen gesuspendeerd in verschillende dextranoplossingen (overgenomen uit Eastham 1954).

De verklaring voor dit verschijnsel is, dat bij te grote geldrollen de verhouding tussen de gevormde geldrollen en de doorsnede van de buis zo is, dat de wrijving een steeds belangrijker rol gaat spelen. De Wet van Stokes gaat dan niet meer op. De relatie tussen de mate van geldrolvorming en de B.S.E. is dan ook niet rechtlijnig. Tot een bepaalde grootte van de geldrollen zal hij een lineair verband benaderen.

c. DE INVLOED VAN HET ANTICOAGULANS

De gevonden B.S.E.-waarde is afhankelijk van het gebruikte anticoagulans. Van heparine is bekend, dat het geen invloed heeft op de geldrolvorming. Dit in tegenstelling tot oxalaat en citraat, die de geldrolvorming remmen (Rourke 1929 en Mayer 1965).

Vergelijkt men nu de B.S.E.-waarden van heparine- en citraatbloed dan ziet men, dat bij de plasmamonsters met een geringe neiging tot geldrolvorming, de B.S.E.-waarden van het heparinebloed hoger zijn; terwijl in monsters met een sterke neiging tot geldrolvorming de B.S.E. van het heparinebloed juist lager is dan de citraat B.S.E.-waarden. Dit fenomeen werd door Östner in 1942 het paradoxaal remmend effect van heparine op de B.S.E. genoemd. Het fenomeen is te verklaren uit het feit, dat de gevormde geldrollen bij vergelijkbare bloedmonsters in het heparinebloed groter zijn.

In onze eigen experimenten bepaalden wij de B.S.E. van bloed, waarbij 3.8 g/100 ml citraat met een spoor heparine werd gemengd. Dit resulteert in vergelijking met citraat alleen als anticoagulans in een hogere B.S.E.-waarde (Groen 1953).

d. DE INVLOED VAN DE AFMETINGEN VAN DE BEZINKINGSBUIS

De gemeten bloedbezinking is afhankelijk van de afmetingen van de bezinkingsbuis. Zo vond Westergren in 1924, dat in buizen met een doorsnede van 2 mm de B.S.E.-waarden lager waren dan in wijdere buizen. Bij te nauwe buizen is de ratio tussen de grootte van de geldrollen en de breedte van de buis zó ongunstig, dat de wrijving tussen de gevormde geldrollen en de buiswand zo groot is, dat de Wet van Stokes niet meer toepasbaar is. Ideaal zouden oneindig wijde buizen zijn. Westergren adviseerde voor de praktijk buizen van 2.5 mm doorsnede.

Ook de hoogte van de gebruikte bezinkingsbuizen is van belang. In een korte buis zal de "packing"-phase in kortere tijd bereikt worden dan in een lange buis. Dit zal de uitslag vooral van bloed met een hoge B.S.E. verstoren.

e. ANDERE INVLOEDEN

Een aantal factoren moeten tot slot worden genoemd. De B.S.E. is sterk

afhankelijk van de temperatuur. Een verlaging van de temperatuur geeft een lagere B.S.E.-waarde. Dit komt waarschijnlijk door een verhoging van de bloedviscositeit (Thygesen 1942). Het is gebruikelijk om de B.S.E. bij een kamertemperatuur van $\pm 20^{\circ}$ Celsius te bepalen.

Voor een goede uitvoering van de meting van de B.S.E. is het nodig, dat de bezinkingsbuis precies vertikaal staat. Reeds een geringe afwijking van 5° uit de vertikale stand geeft een hogere bloedbezinking (Berczeller 1924).

D. De gedefinibreerde bloedbezinking

De B.S.E. geeft geen informatie over de aard van de veranderingen in samenstelling van de plasma-eiwitten bij ziekten. Een verhoogde B.S.E. kan men vinden bij ziekteprocessen met en zonder weefselverval; zoals b.v. een levercirrhose.

Meer informatie geeft de gedefibrineerde B.S.E. Deze is verhoogd bij een toegenomen globulinengehalte en dan vooral van de gammaglobulinen. Bendien en Snapper (1932) stelden, dat een gedefibrineerde B.S.E. hoger dan 10 mm op een verhoging van het globulinengehalte wijst.

Ook Groen (1953) beschreef in zijn dissertatie een significante correlatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. en het globulinengehalte. De gedefibrineerde B.S.E. is volgens hem een eenvoudige methode om een globale indruk van het globulinengehalte te krijgen en als zodanig zeer bruikbaar in de kliniek.

E. Conclusies

1. De mate van geldrolvorming is op zich een redelijk goede indicator voor het bestaan van veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten.
2. De geldrolvorming, en daarmee ook de B.S.E., geeft geen informatie over de aard van de veranderingen.
3. De gedefibrineerde B.S.E. geeft een indruk over het bestaan van een verhoogd globulinengehalte.
4. Buiten de plasma-eiwitten zijn er een groot aantal andere factoren, die een invloed op de geldrolvorming hebben.
5. De bloedbezinking geeft slechts bij benadering de mate van geldrolvorming weer.

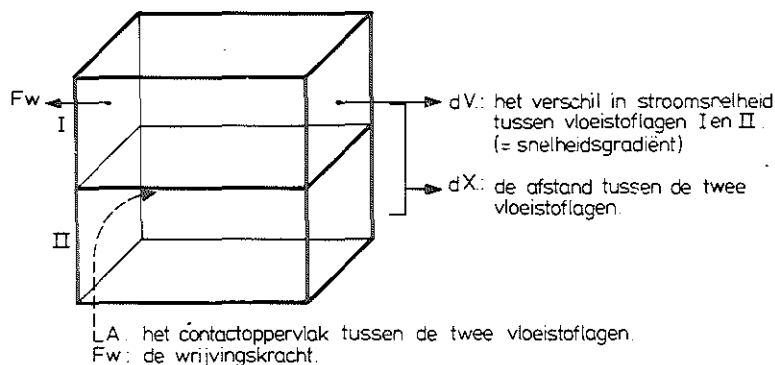
3. DE VISCOSITEIT VAN PLASMA EN SERUM

A. Omschrijving van het begrip viscositeit

Onder de viscositeit van een vloeistof verstaat men de eigenschap van deze vloeistof om zich te verzetten tegen vormverandering of tegen stroming. Dit komt volgens Tanford (1966) door de aantrekkingskrachten die aan elkaar grenzende vloeistofflagen op elkaar uitoefenen.

Bewegen twee aan elkaar grenzende vloeistofflagen met een verschillende

snelheid t.o.v. elkaar, dan zal er als gevolg van de onderlinge aantrekkingskrachten een kracht ontstaan, die deze beweging zal tegengaan en die tegengesteld is aan de bewegingsrichting. Deze kracht noemt men de *inwendige wrijvingskracht* (synoniem "shear force"). De grootte van deze wrijvingskracht is recht evenredig met het verschil in snelheid tussen deze vloeistoflagen en met het contactoppervlak van deze vloeistoflagen. Hij is omgekeerd evenredig met de afstand tussen de centra van de bewegende elementen (zie figuur 3).



Figuur 3. De factoren, die de inwendige wrijvingskracht bepalen.

Deze wrijvingskracht werd door *Newton* in de volgende formule vastgelegd.

$$F_w = \eta \frac{dV}{dX} dA \quad (I)$$

- F_w is de inwendige wrijvingskracht.
- η is de viscositeitscoëfficiënt van de vloeistof.
- dV is het verschil in snelheid tussen de twee vloeistoflagen (synoniem snelheidsgradiënt).
- dX is de afstand tussen de twee vloeistoflagen.
- dA is het contactoppervlak.

De *viscositeitscoëfficiënt* (of de coëfficiënt van inwendige wrijving), die meestal viscositeit wordt genoemd, is een materiaal constante en afhankelijk van de onderzochte vloeistof. Newton definieerde de viscositeitscoëfficiënt als de kracht in dynes, die uitgeoefend moet worden om een verschil in snelheid van 1 cm/sec te krijgen tussen twee parallel stromende vloeistoffen, die op 1 cm afstand van elkaar liggen en een contactoppervlak van 1 cm² met elkaar hebben

(uitgedrukt in eenheden van het C.G.S.-stelsel). De viscositeit van een vloeistof is afhankelijk van de condities waaronder men deze meet: b.v. de druk en de temperatuur. Bij hogere temperatuur neemt de viscositeit van een vloeistof af.

De eenheid van de *absolute viscositeit* is de *poïse*, deze wordt in het C.G.S.-systeem (centimeters-gram-seconden) in dyne-seconden per cm^2 uitgedrukt (in het M.K.S.-systeem Newton-seconden per m^2). Ook kent men de eenheden van de *kinematische viscositeit*, deze geeft de ratio weer tussen de viscositeit in poïse en de dichtheid van de vloeistof. De dichtheid van een stof is de massa per volume-eenheid. De eenheid van de kinematische viscositeit is de *stoke*. In de praktijk gebruikt men meestal de centipoïse en de centistoke, die respectievelijk 0,01 poïse en 0,01 stoke zijn.

Voor ijkingsdoeleinden gebruikt men de absolute viscositeit van water bij 20° Celsius. Deze is 0.010019 poïse of 1 centipoïse. In tabel III geven wij een samenvatting van de gangbare eenheden van de absolute en kinematische viscositeit en de omrekening van deze eenheden in elkaar.

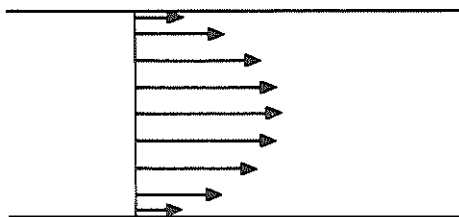
Tabel III. Overzichtstabel van de verschillende viscositeitseenheden

Poïse	= C.G.S.-eenheid van de absolute viscositeit:	$\frac{\text{g}}{\text{sec} \times \text{cm}}$
Poïse in M.K.S.-eenheden	$0.1 \text{ Newton s.m}^2 = \frac{0.1 \text{ kg}}{\text{sec} \times \text{m}}$	
Stoke	= C.G.S.-eenheid van de kinematische viscositeit:	$\frac{\text{g}}{\text{sec} \times \text{cm} \times \text{dichtheid}}$
Centipoïse	= 0.01 Poïse	
Centistoke	= 0.01 Stoke	
Centipoïse	= centistoke \times dichtheid	

Bij de *Newtonse vloeistoffen* (b.v. water) is de viscositeit bij iedere snelheidsgradiënt constant. De *snelheidsgradiënt* is het verschil in stroomsnelheid tussen twee aan elkaar grenzende laminair stromende vloeistoflagen. Oplossingen met asymmetrische macromoleculen (b.v. plasma) gedragen zich *Non-Newtons*, d.w.z. dat hun viscositeit afhankelijk is van de snelheidsgradiënt waarbij hij gemeten wordt. De verklaring van dit *Non-Newtonse* gedrag van macromoleculaire oplossingen zocht Tanford (1966) in een meer of mindere oriëntatie van de macromoleculen in de richting van de stroomlijnen (bij laminaire stroming). Deze oriëntatie is afhankelijk van de snelheidsgradiënt. Bij een lagere snelheidsgradiënt zullen de macromoleculen "at random" georiënteerd zijn en zo de stroomlijnen verstoren, hetgeen resulteert in een hogere viscositeit. De macromoleculen zullen zich bij een hoge snelheidsgradiënt in de richting van de stroomlijnen oriënteren: de viscositeit zal dan lager worden.

De Franse geleerde *Poiseuille* bestudeerde de stroming van de vloeistoffen door een buis. Bij een lagere stroomsnelheid is er sprake van laminaire stroming.

Door sterke adhaesieve krachten, die er tussen de wand en de aangrenzende vloeistofmoleculen bestaan, neemt de vloeistoflaag, die direct aan de buiswand grenst, niet deel aan de stroming. Zodat de inwendige wrijving, die een vloeistof bij stroming ondervindt bepaald wordt door de viscositeit van die vloeistof en onafhankelijk is van de aard van de buiswand. Vanaf de stromende laag aan de buiswand neemt de stroomsnelheid van de vloeistoflagen naar het centrum toe. De laminaire stroming van een vloeistof door een buis moet men zich voorstellen als een groot aantal cilindrische lagen met de snelst stromende cylinder in het centrum. De langzaamst stromende lagen zullen de stroomsnelheid van de sneller stromende lagen remmen. In figuur 4 geven wij het stromingsprofiel weer.



Figuur 4. Het stromingsprofiel van een laminair stromende vloeistof.

De stroomsnelheid v van een vloeistof door een buis wordt bepaald door het heersende drukverschil, door de viscositeit van de vloeistof en door een aantal dimensies van de gebruikte buis.

$$v = \frac{\pi \Delta P r^4}{8 \eta l} \quad (II)$$

v = de stroomsnelheid in ml per seconde.

P = het drukverschil in dyne per cm^2 .

r = de straal in cm.

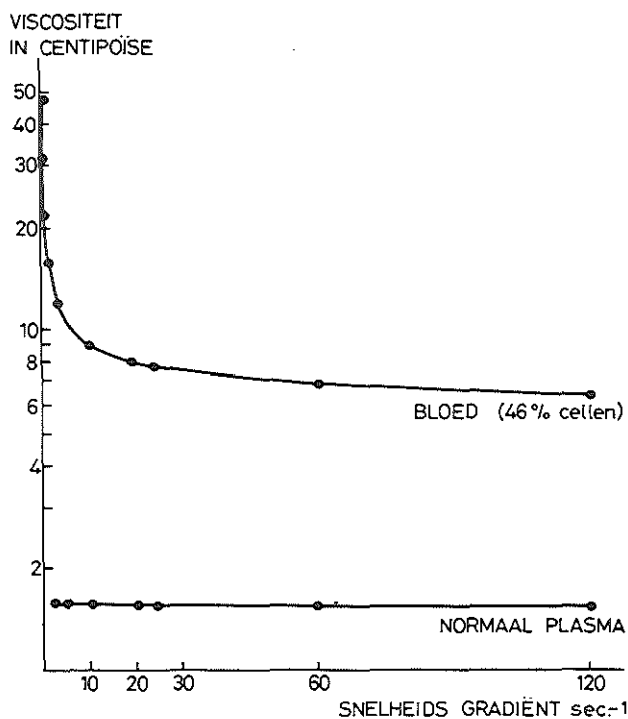
l = de lengte in cm.

η = de viscositeit in poise.

Met behulp van deze formule waar r en l bekend zijn en v en ΔP meetbare grootheden zijn kan men van een Newtonse vloeistof de viscositeit bepalen.

Anders is dit bij de *Non-Newtonse vloeistoffen*. Hier is de viscositeitscoëfficiënt afhankelijk van de snelheidsgradiënt waarbij de meting wordt verricht. Experimenteel werd dit voor bloed en plasma door verschillende auteurs aangetoond (Dintenfass 1965, Wells 1962).

In figuur 5 laten wij het verband zien tussen de viscositeit van bloed en plasma van een gezonde proefpersoon en de snelheidsgradiënt.



Figuur 5. Het verband tussen snelheidsgradiënt en de viscositeit van bloed en plasma van een gezonde persoon.
(Overgenomen uit Wells 1962).

Wij zien dat de bloedviscositeit vooral stijgt bij snelheidsgradiëntwaarden onder de 100 sec^{-1} . Dit wordt toegeschreven aan de gelddrolvorming van de erythrocyten, die dan plaats vindt (Bayliss 1958, Merrill 1961 en Wells 1962).

Het plasma van een gezonde proefpersoon gedraagt zich bij benadering als een Newtonse vloeistof. Dit geldt niet voor plasma met een hoog gehalte aan IgM, aan IgG of cryoglobulinen (Dintenfass 1965). Wanneer men echter de viscositeit van plasmamonsters met een hoog gehalte aan IgM bij snelheidsgradiëntwaarden boven de 100 sec^{-1} meet, dan kan men in de praktijk zeggen, dat ook dit plasma zich vrijwel gedraagt als een Newtonse vloeistof; d.w.z. dat kleine veranderingen in snelheidsgradiënt geen grote verschillen in viscositeit geven (Kruyt 1952). Bij gebruik van een Oswald-capillairmeter voor de meting van de plasma-viscositeit liggen de snelheidsgradiëntwaarden boven de 100 sec^{-1} .

B. De factoren, die de viscositeit van plasma en serum bepalen

a. INLEIDING

De viscositeit van een oplossing wordt door de volgende 6 factoren bepaald:

1. De viscositeit van het oplosmiddel.
2. De in het oplosmiddel opgeloste macromoleculen.
3. De pH.
4. De temperatuur.
5. De ionenconcentratie.
6. De snelheidsgradiënt waarbij de viscositeit wordt bepaald.

Het oplosmiddel van plasma en serum is water. De pH en de ionenconcentratie van de plasma- en serummonsters zullen onderling niet veel verschillen. In de vorige paragraaf werd vermeld, dat de snelheidsgradiënt bij gebruik van een Oswald-capillairmeter (zie hoofdstuk IV, Proefopstelling en methoden) zo hoog is, dat deze géén belangrijke variabele is. Tenslotte kan de temperatuur, waarbij men de metingen verricht, constant gehouden worden, zodat men kan stellen, dat de viscositeit van plasma en serum zal variëren met de erin opgeloste macromoleculen: eiwitten en lipiden. Toevoeging van lipiden aan plasma had een te verwaarlozen invloed op de P.V., wanneer men de meting bij 37° C uitvoert (Dintenfass 1965), zodat verschillen in viscositeit tussen plasmamonsters het gevolg zijn van verschillen in de samenstelling van de plasma-eiwitten.

In de volgende paragrafen zullen wij de invloed bespreken van de concentratie, de vorm en de fysisch-chemische interacties van de plasma-eiwitten op de viscositeit. Tevens zal worden ingegaan op de invloed van de temperatuur op de P.V.

b. DE INVLOED VAN DE VORM EN DE CONCENTRATIE VAN DE EIWITTEN

In het goede overzicht, dat Tanford (1966) schreef over de viscositeit van macromoleculaire oplossingen, stelde hij dat men deze oplossingen kan beschouwen als een suspensie. De viscositeit van zo'n suspensie is hoger dan de viscositeit van het oplosmiddel. *Einstein* heeft een formule berekend, die het verband weergeeft tussen de viscositeit van de suspensie van bolvormige deeltjes en die van het oplosmiddel.

$$\eta^1 = \eta(1 + 2.5 \varphi) \quad (\text{III})$$

waarbij η^1 de viscositeit van de suspensie is.

η de viscositeit van het oplosmiddel is.

φ de volumefractie is, die gesuspendeerde partikels van het totale volume van de suspensie innemen.

De viscositeit van de suspensie is onafhankelijk van de grootte van de bolvormige partikels. *Simha* werkte de formule van Einstein uit voor asymmetrisch gevormde macromoleculen. Zijn resultaat wordt weergegeven in formule IV.

$$\eta^1 = \eta(1 + \nu\varphi) \quad (\text{IV})$$

waarbij η^1 de viscositeit van de suspensie is.
 η de viscositeit van het oplosmiddel is.
 φ de volumefractie is, die de gesuspendeerde partikels van het totale volume van de suspensie innemen.
 ν bepaald wordt door de vorm van het partikel.

De grootte van ν is afhankelijk van de vorm (b.v. of het een staaf- of schijfvormig deeltje is) en van de as-verhouding van het deeltje. Naarmate de vorm de bolvorm benadert, komt de ν -waarde dichterbij 2,5 (zie formule III).

Passen wij het bovenstaande toe op ons eigen onderzoek over de viscositeit van plasma en serum, dan is het van belang te realiseren, dat vooral de vorm van het eiwit bepaalt in welke mate een eiwit tot de plasma-viscositeit bijdraagt. Zo zullen eiwitten, die de bolvorm benaderen, d.w.z. een kleine ν -waarde hebben, relatief weinig bijdragen tot de viscositeit van plasma, asymmetrisch gebouwde eiwitten met een grote ν -waarde zullen juist veel bijdragen.

De door Einstein en *Simha* ingevoerde grootheden ν en φ zijn voor experimenteel onderzoek met eiwitoplossingen niet bruikbaar. In de eiwitchemie drukt men experimentele gegevens uit in de specifieke viscositeit. De *specifieke viscositeit* is een foutieve benaming voor deze grootheid en het zou beter zijn om hem specifieke toename van de viscositeit te noemen (*Kruyt* 1952). De specifieke viscositeit omschrijft nl. het viscositeitsverhogende vermogen van eiwitten (of andere moleculen) wanneer deze in water of in een ander oplosmiddel worden opgelost.

$$\eta_{sp} = \frac{\eta^1 - \eta}{\eta} \quad \text{of} \quad \eta_{sp} = \frac{\eta^1}{\eta} - 1 \quad (\text{V})$$

η_{sp} is de specifieke viscositeit.
 η^1 is de viscositeit van de oplossing.
 η is de viscositeit van het oplosmiddel.

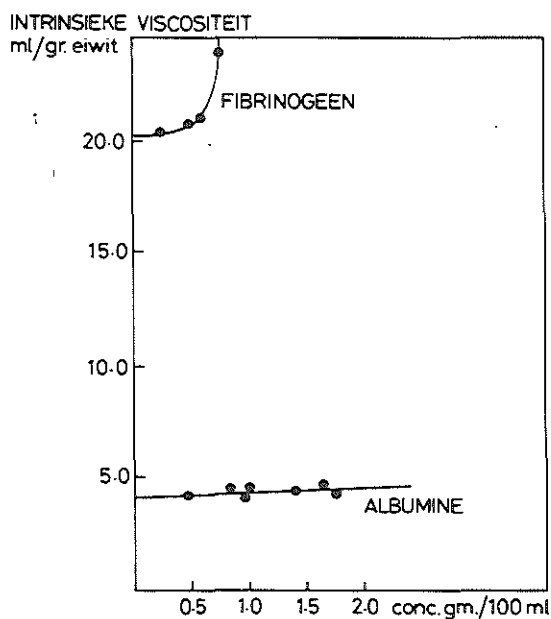
Daar de specifieke viscositeit zowel door de vorm als door de concentratie van het opgeloste eiwit wordt bepaald (zie formule IV), heeft men een andere grootheid (de intrinsieke viscositeit) ingevoerd, die niet van de concentratie van het eiwit afhankelijk is. Deelt men de specifieke viscositeit door de concentratie van het eiwit in oplossing, dan krijgt men de *gereduceerde viscositeit*, een waarde

die minder afhankelijk is van de concentratie. De specifieke viscositeit is pas onafhankelijk van de eiwitconcentratie, wanneer deze de nul-waarde nadert. Deze limietwaarde noemt men de *intrinsieke viscositeit*, een getal dat aangeeft in welke mate een eiwit aan de viscositeit van een oplossing bijdraagt. De intrinsieke viscositeit wordt in formule VI vastgelegd (Kraemer 1938).

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} - \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta^1 - \eta}{\eta c} \quad (VI)$$

waarbij $[\eta]$ de intrinsieke viscositeit is.
 η^1 de viscositeit van de oplossing is.
 η de viscositeit van het oplosmiddel is.
 c de concentratie van het opgeloste eiwit is in g/ml.
 η_{sp} de specifieke viscositeit is.

De intrinsieke viscositeit van een eiwit is experimenteel te bepalen door een verdunningsreeks van een eiwit te maken en deze waarden naar de nul-waarde te extrapoleren. Een voorbeeld geven wij in figuur 6 overgenomen uit een artikel van Hess (1956).



Figuur 6. De bepaling van de intrinsieke viscositeit van fibrinogeen en albumine.
 (Overgenomen uit Hess 1956).

De intrinsieke viscositeit wordt in ml per gram eiwit uitgedrukt. Deze parameter van een eiwit kan men zich het beste voorstellen als de ruimte of het specifieke volume, die eiwitmoleculen nodig hebben om in een viscometer te kunnen stromen. Zo is deze voor albumine 4,2 ml en voor fibrinogeen 25 ml per gram eiwit (volgens Hess 1956).

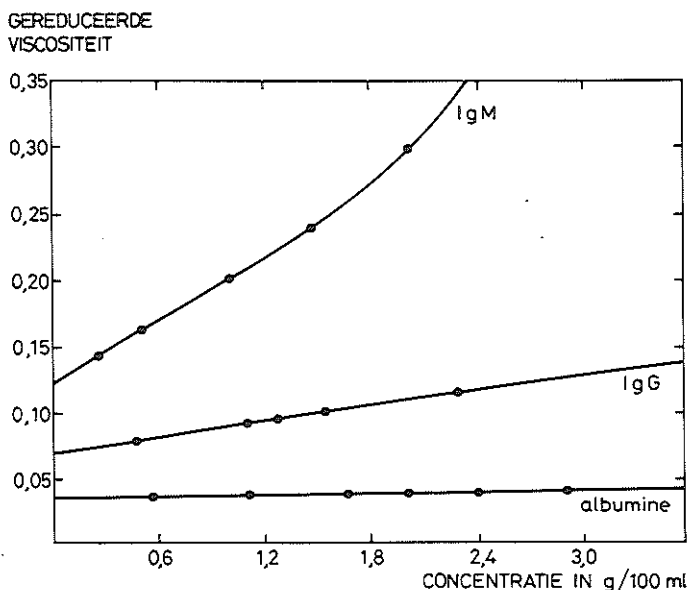
Voor de intrinsieke viscositeit geldt hetzelfde als voor de ν -waarde van de formule van Einstein-Simha, dat de grootte bepaald wordt door de asymmetrie van het eiwitmolecuul en in mindere mate door de molecuulmassa. Zo vond Staudinger in 1934 in verdunde oplossingen, dat de specifieke viscositeitstoename van langketige moleculen proportioneel was met de molecuulmassa. Het betrof hier echter geen eiwitten, maar koolwaterstofketens.

Van een aantal plasma-eiwitten geven wij in tabel IV de molecuulmassa en de intrinsieke viscositeit weer. Deze waarden zijn overgenomen uit het boek van Schulze en Heremans (1966). De intrinsieke viscositeit van IgM uit Steel (1959) en Jahnke (1958) en van het β -lipoproteïne uit Oncley (1947). Uit de tabel blijkt van hoe weinig belang de molecuulmassa is voor de grootte van de intrinsieke viscositeit bij de plasma-eiwitten. Het beste voorbeeld is het groot moleculaire β -lipoproteïne met een intrinsieke viscositeit van 4,1 ml/gram.

Tabel IV. De intrinsieke viscositeit en de molecuulmassa van een aantal plasma-eiwitten.

Plasma-eiwit	Molecuulmassa	Intrinsieke viscositeit (ml/g)
1. albumine	69.000	4.2
2. α_1 -zure glycoproteïne	44.100	6.9
3. α_1 -antitrypsine	45.000	6.8
4. α_2 -macroglobuline	820.000	6.8
5. transferrine	80.000	5.5
6. β -lipoproteïne	3.200.000	4.1
7. fibrinogeen	341.000	25.0
8. IgG	160.000	6.0
9. IgM	1.000.000	± 20.0 (Steel 1959) ± 10.0 (Jahnke 1958)

Volgens Staudinger (1932) kan men twee fasen onderscheiden in de relatie tussen de *polymeerconcentratie* en de *viscositeitstoename*, die een polymeer aan een oplossing geeft. Tot de zg. "*limiting concentration*" bestaat er min of meer een rechtlijnig verband. Boven de "*limiting concentration*" is er geen rechtlijnig verband meer. Deze fase kenmerkt zich door een snelle stijging van de viscositeit bij verdere concentratieverhoging.



Figuur 7. Het verband tussen de concentratie en de gereduceerde viscositeit van een aantal plasma-eiwitten.

Bekijken wij in figuur 7 (overgenomen uit Jahnke 1958) de relatie tussen de gereduceerde viscositeit en de eiwitconcentratie; dan zien wij een vrijwel rechtlijnig verband bij het IgG en het albumine; deze eiwitten hadden in dit experiment kennelijk nog niet de "limiting concentration" bereikt. Bij het IgM zien wij een knik ontstaan bij ± 1.8 g/100 ml. Dit is van het onderzochte IgM de "limiting concentration". Tot 1.8 g/100 ml verloopt de curve rechtlijnig, daarna zien wij een snelle stijging van de viscositeit. Hetzelfde zien wij voor het fibrinogeen in figuur 6. Hier is de "limiting concentration" ± 0.7 g/100 ml. Gezien bovengenoemde experimentele gegevens lijkt het, dat de bevindingen van Staudinger ook van toepassing zijn op de plasma-eiwitten.

In de tweede plaats vond Staudinger (1932) dat de "limiting concentration" van zijn verschillende polymeren bij dezelfde viscositeitstoename, en wel bij 0.1 poïse, bereikt werd. Een dergelijk onderzoek kennen wij niet van de plasma-eiwitten. Wanneer wij hypothetisch stellen, dat de waarde van 0.1 poïse ook voor plasma-eiwitten geldt, dan kunnen wij in figuur 8 hypothetisch de relatie tussen de concentratie en de viscositeitstoename van de oplossing weergegeven van 4 plasma-eiwitten met een verschillende intrinsieke viscositeit.

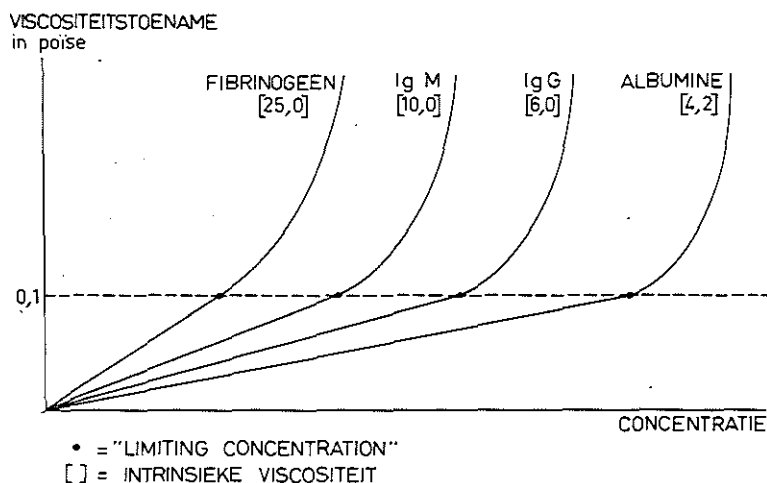
Voor het eerste rechtlijnig verlopende deel van de curve (figuur 7 en 8) geldt bij benadering, dat de viscositeitsverhoging het product is van de intrinsieke viscositeit en de concentratie van het eiwit (Jahnke 1958).

$$\eta_{sp} = [\eta] \times c \quad (\text{VII})$$

η_{sp} = specifieke viscositeit
 $[\eta]$ = intrinsieke viscositeit
 c = concentratie

Zo zien wij in figuur 8, dat naarmate de intrinsieke viscositeit hoger is, concentratieschommelingen van dit eiwit de P.V. meer zullen veranderen. Ten tweede zal zo'n eiwit bij een stijgende concentratie sneller de "limiting concentration" bereiken, waarna bij een verdere toename van het eiwitgehalte de P.V. snel zal stijgen.

De consequentie van bovenstaand betoog is, dat vooral de concentratieveranderingen van eiwitten met een hoge intrinsieke viscositeit de P.V. zullen beïnvloeden; b.v. het fibrinogeen, het IgM en in mindere mate het IgG. Daarentegen zullen zelfs relatief grote concentratieveranderingen van het albumine de P.V. weinig beïnvloeden.



Figuur 8. De relatie tussen de concentratie en de viscositeitstoename van 4 plasma-eiwitten met een verschillende intrinsieke viscositeit (hypothetisch gesteld).

c. DE FYSISCH-CHEMISCHE INTERACTIES (AGGREGATIE) VAN DE EIWITTEN

De conclusie van de voorafgaande paragraaf, dat de concentratieveranderingen van eiwitten met een hoge intrinsieke viscositeit de plasma-viscositeit voornamelijk zullen beïnvloeden, gaat alleen op, wanneer er geen aanzienlijke aggre-

gatie van de eiwitten in het plasma plaats vindt. Door aggregatie ontstaan asymmetrisch gevormde macromoleculen met een hoge intrinsieke viscositeit. Dit is theoretisch een oorzaak voor een hoge plasmaviscositeit, zonder dat er sprake is van een toename van het gehalte in plasma van eiwitten met een hoge intrinsieke viscositeit. Hess (1956) bepaalde de intrinsieke viscositeit van de met zône-electrophorese verkregen eiwitfracties van gezonde proefpersonen en patiënten. De som van deze intrinsieke viscositeitswaarden vergeleek hij met de intrinsieke viscositeit van het plasma als geheel. Uit het feit, dat hij géén verschil tussen deze twee waarden vond, concludeerde hij dat er in plasma géén noemenswaardige aggregatie van de eiwitten plaats vindt.

Dat dit in zijn algemeenheid niet waar is bleek uit een publicatie van Kochwa in 1966, die een hyperviscositeitssyndroom beschreef bij een patiënt met een IgG paraproteïnaemie. De hoge serumviscositeit was hier het gevolg van aggregatievorming van de IgG moleculen.

Concluderend mag men zeggen, dat er in het algemeen geen dusdanige aggregatievorming in plasma is, dat deze de plasmaviscositeit belangrijk beïnvloedt. Bij een onbegrepen hoge plasma- of serumviscositeit moet men wel rekening houden met aggregatievorming door de eiwitmoleculen.

d. DE INVLOED VAN DE TEMPERATUUR

De gevonden viscositeit van een vloeistof is afhankelijk van de temperatuur (Somer 1966, Tanford 1966). Bij lagere temperatuur wordt hij hoger. Ook de plasma- en serumviscositeit is hoger naarmate de temperatuur lager is. De mate waarin de viscositeit toeneemt bij temperatuurverlaging is afhankelijk van de samenstelling van de plasma-eiwitten.

De stijging van de S.V. bij temperatuurverlaging is vooral afhankelijk van het globulinegehalte (Sandkühler 1958). Zo beschreef Waldenström in 1944 een zeer sterke stijging van de S.V. bij zijn patiënten met een macroglobulinaemie. Later in 1952 beschreef hij dit ook bij patiënten met cryoglobulinen of een hoog IgG-gehalte. Deze sterke stijging van de S.V. bij temperatuurverlaging verklaart men wel door een aggregatie van de eiwitmoleculen bij lagere temperatuur (Waldenström 1944, Jahnke 1958).

Bij de toepassing van de bepaling van de plasma- en serumviscositeit in de kliniek is het belangrijk te realiseren, dat de invloed van IgM, cryoglobulinen en andere gammaglobulinen op de serumviscositeit bij 20° C groter is dan bij 37° C.

In ons eigen onderzoek voerden wij de viscositeitsbepalingen uit bij 37° C. De reden hiervoor was, dat Somer (1966) in zijn uitvoerige overzicht over de plasma- en serumviscositeit bij een temperatuur lager dan 37° C troebeling in zijn plasmamonsters zag. Hij schreef dit toe aan het heparine, waarvan Heinrich (1963) beschreef, dat dit bij lagere temperatuur een precipitatie van het fibrinogeen kan veroorzaken.

C. De meting en weergave van de plasmaviscositeit in de kliniek

Een der grootste problemen bij de bestudering van de plasma- en serumviscositeit in de literatuur is het gebrek aan standaardisering (Harkness 1963). De viscositeit wordt weergegeven in onderling niet vergelijkbare maten als centipoise, centistoke en *relatieve viscositeit*. De laatste geeft de verhouding weer tussen de producten van de doorstroomtijd en de soortelijke massa van de oplossing (plasma) en het oplosmiddel (water). De relatieve viscositeit is afhankelijk van de gebruikte apparatuur: deze is niet internationaal gestandaardiseerd, zodat de uitkomsten van de viscositeit uitgedrukt als relatieve viscositeit onderling niet vergelijkbaar zijn.

De relatieve viscositeit is eenvoudig te bepalen met de Oswald-capillairmeter of een daarvan afgeleid apparaat en volgt uit de volgende formule (VIII).

$$\eta_r = \frac{t_1 \times s_1}{t_0 \times s_0} \quad (\text{VIII})$$

waarbij η_r de relatieve viscositeit van de oplossing is.
 t_1 en s_1 respectievelijk de doorstroomtijd en de
soortelijke massa van de oplossing zijn.
 t_0 en s_0 de doorstroomtijd en de soortelijke
massa van het oplosmiddel zijn.

Daar het verschil tussen de soortelijke massa van plasma en water klein is, verwaarlozen de meeste onderzoekers de soortelijke massa als factor en drukken de η_r uit als een quotiënt van t_1/t_0 .

In ons eigen onderzoek zullen wij de plasma- en serumviscositeit weergeven in centistokes. Iedere gebruikte Oswald-capillairmeter werd geijkt met behulp van ijkoliën van bekende viscositeit. Ons inziens zou de uitdrukking van de plasmaviscositeit in centistokes in van te voren geijkte buizen het bovengenoemde standaardiseringsprobleem oplossen. Voor de verdere techniek van de meting van de viscositeit verwijzen wij U naar hoofdstuk IV: Methoden van onderzoek.

D. De serumviscositeit

Wanneer men gelijktijdig de P.V. en de S.V. bepaalt, krijgt men twee belangrijke gegevens over het eiwitspectrum. Ten eerste heeft men in het verschil tussen de P.V. en de S.V. een maat voor het fibrinogeengehalte (Lawrence 1950, Petersen 1953, Hellendoorn en Gerbrandy 1961). Ten tweede werd er van de S.V. alléén een relatie beschreven met het globulinengehalte (Lawrence 1950 en Hellendoorn en Gerbrandy 1961). Concluderend kan men stellen, dat de gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. meer informatie geeft over de samenstelling van de plasma-eiwitten dan de bepaling van de P.V. alleen.

E. Conclusies

1. De plasmaviscositeit is een maatstaf voor het bestaan van veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten.
2. De viscositeitsverhoging, die een eiwit bij toevoeging aan een oplossing geeft, is afhankelijk van zijn intrinsieke viscositeit en concentratie.
3. Tot de zg. "limiting concentration" is er bij benadering een rechtlijnig verband tussen de eiwitconcentratie en de viscositeitsverhoging, die het eiwit aan de oplossing geeft.
4. De veranderingen van plasma- en serumviscositeit zullen vooral door concentratieveranderingen van de eiwitten met een hoge intrinsieke viscositeit worden bepaald. Dit zijn met name het fibrinogeen, het IgM en in mindere mate het IgG. De veranderingen in het albuminegehalte zullen de P.V. en S.V. relatief weinig beïnvloeden.
5. De plasmaviscositeit op zich geeft géén gegevens over de aard van de veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten.
6. Bij een gelijktijdige bepaling van de plasma- en serumviscositeit heeft men een maat voor:
 - a. het fibrinogeengehalte.
 - b. het globulinegehalte.
7. In vergelijking met de B.S.E. is de P.V. bepaling van minder variabelen afhankelijk. De mogelijk belangrijkste variabele, die de P.V. en S.V. kan mee bepalen, is de aggregatie van de plasma-eiwitten.

4. NABESCHOUWING: DE BLOEDBEZINKING VERGELEKEN MET DE PLASMAVISCOSITEIT

De B.S.E. en de P.V. hebben met elkaar gemeen, dat zij beide op min of meer dezelfde wijze gevoelig zijn voor bepaalde veranderingen in het eiwitspectrum. Zo zien wij, dat een stijging van het fibrinogeen of van het IgM zowel de geldrolvorming als de viscositeit van het plasma het sterkst van alle plasma-eiwitten beïnvloeden. Belangrijke veranderingen in het albuminegehalte zullen relatief weinig invloed hebben op de geldrolvorming en de viscositeit. Het is dan ook niet verwonderlijk, dat diverse onderzoekers een significant positieve correlatie gevonden hebben tussen de B.S.E. en de P.V. (Gibson 1940, Hardwicke 1952, Houston 1949 en Woodmansey 1948).

De voordelen van de P.V.-bepaling zijn dan ook niet zozeer gelegen in een belangrijk verschil in informatie tussen de P.V. en de B.S.E. over de veranderingen in het eiwitspectrum, maar meer in het feit dat de B.S.E. van meer factoren afhankelijk is dan de P.V.

Voor een gedeelte zijn dit factoren, die de geldrolvorming zelf beïnvloeden, zoals b.v. de vorm van de erythrocyten, de invloed van antipyretische medicamenten en het zuurstofgehalte van het bloed.

Andere variabelen komen voort uit de meting van de mate van geldrolvorming in de bezinkingsbuis. De B.S.E. meet slechts bij benadering de grootte van de gevormde geldrollen. De slechte correlatie tussen de geldrolvorming en B.S.E. is voor een deel te verklaren uit het feit, dat de Wet van Stokes slechts bij benadering op de B.S.E. van toepassing is (zie blz. 23).

Dit werd fraai geïllustreerd door de experimenten van Eastham (1954). Deze bestudeerde de valsnelheid van erythrocyten gesuspendeerd in Dextranoplossingen. Hij vond eerst bij oplopende Dextranconcentratie een proportionele toename van de valsnelheid; tot de gevormde geldrollen zo groot waren in relatie tot de doorsnede van de buis, dat door de toegenomen wrijving tussen geldrollen en buiswand bij verdere Dextranverhoging de valsnelheid lager werd (zie figuur 2). Deze niet-rechthoekige relatie tussen de grootte van de geldrollen en de valsnelheid van de erythrocyten is ook van toepassing bij het gebruik van de B.S.E. voor de screening van veranderingen in het eiwitspectrum.

Een tweede nog niet genoemde reden, waarom de geldrolvorming slecht zal correleren met de B.S.E. is de invloed, die het aantal erythrocyten heeft op de viscositeit van het medium. Door een aantal auteurs (o.a. Thygesen 1942) wordt aangenomen, dat deze vooral door het aantal erythrocyten wordt bepaald. Buiten de individuele variaties kan het aantal erythrocyten in het beloop van een ziekteproces aanzienlijk veranderen; zodat de B.S.E. wordt beïnvloed door twee variabelen, de haematocriet en het eiwitspectrum, waarbij wij alleen in de veranderingen van het laatste zijn geïnteresseerd. Behalve de invloed op de viscositeit bepaalt het aantal erythrocyten ook het punt waarop de derde fase "de packing phase" van de bezinkingscurve wordt bereikt. Dit effect is vooral belangrijk bij de bepaling van de één uurs bloedbezinking.

Het belangrijkste verschil tussen de P.V. en de B.S.E. is, dat met de P.V. veranderingen in het eiwitspectrum vastgesteld kunnen worden zonder tussenkomst van de erythrocyt. Dit geeft de P.V.-bepaling het grote voordeel op de B.S.E., dat veranderingen van de P.V. vrijwel uitsluitend het gevolg zijn van veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten, wanneer althans wordt voldaan aan de volgende voorwaarden:

1. Er in het plasma of serum geen sprake is van aanzienlijke aggregatie (zie blz. 40).
2. Alle metingen bij dezelfde temperatuur worden verricht.
3. De metingen uitgevoerd worden bij een snelheidsgradiënt hoger dan $100 \cdot 10^3$ sec. Bij een hoge snelheidsgradiënt gedraagt plasma zich bij benadering als een Newtonse vloeistof (o.a. Kruyt 1949).
4. Er moet in het systeem een laminaire, en niet turbulente stroming zijn.

De Oswald-capillairmeter, die ook in ons onderzoek gebruikt werd, voldoet in belangrijke mate aan de punten 3 en 4 en voldoet zo aan de eisen, die Poiseuille stelde, waaronder men de viscositeit van een oplossing mag bepalen (Kruyt 1949). In tegenstelling tot de Wet van Stokes op de B.S.E. zijn de wetten van

Poïseuille toepasbaar op de viscositeitsbepaling van plasma, hetgeen de theoretische basis van de P.V.-bepaling betrouwbaarder maakt dan die van de B.S.E.-bepaling.

Concluderend mag men zeggen, dat de P.V.-bepaling duidelijke voordelen boven de B.S.E. heeft om veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten aan te tonen. Het voordeel is ten eerste gelegen in het feit, dat de P.V. vrijwel uitsluitend door veranderingen in het eiwitspectrum bepaald wordt en ten tweede dat de Oswald-capillairmeter een beter instrument is voor de bepaling van de viscositeit, dan de B.S.E. is voor de bepaling van de mate van geldrolvorming.

HOOFDSTUK IV

DE METHODEN VAN ONDERZOEK

1. INLEIDING

In hoofdstuk I hebben wij de volgende vragen naar voren gebracht:

1. Welke van de twee methoden, de B.S.E. met de gedefibrineerde B.S.E. of de P.V. met de S.V. geeft het meeste inzicht in de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum.
2. In hoeverre is het verschil tussen plasma- en serumviscositeit ("δV") een bruikbare maat voor het fibrinogeengehalte en waarom is hij als fibrinogeenbepaling onbetrouwbaar bij patiënten met multiple myeloma.
3. Hoe is de relatie tussen "δV" als "acute phase reactant" en een aantal andere "acute phase reactants".

Om bovengestelde vragen te beantwoorden onderzochten wij een groep gezonde personen en een groep patiënten. In paragraaf 2 van dit hoofdstuk zullen wij de samenstelling en selectie van de twee groepen bespreken. De proefopstelling wordt in paragraaf 3 besproken. Bij de beschrijving van de gebruikte methoden wordt vooral op de uitvoering van de bepaling van de viscositeit ingegaan.

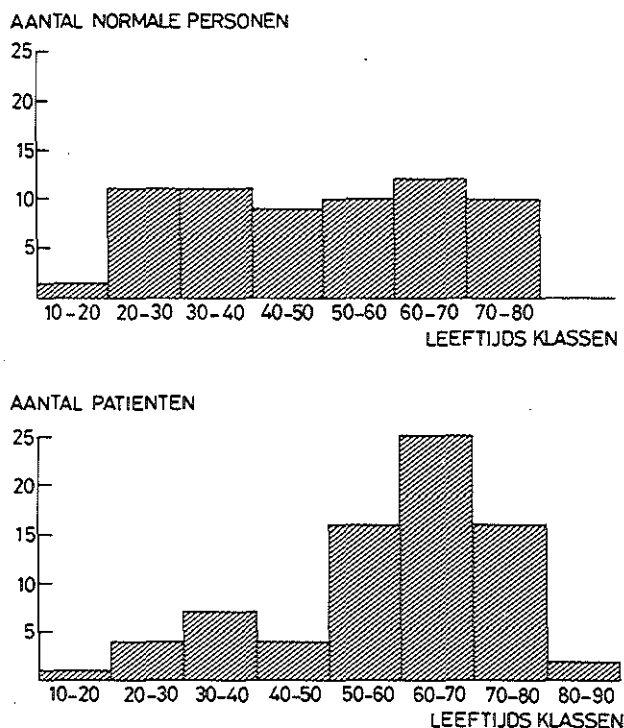
In de voorlaatste paragraaf wordt een tabel gegeven van de normale waarden en de fout van de bepalingen. In alle volgende hoofdstukken zullen wij naar deze tabel verwijzen. Tevens wordt hier onderzocht in hoeverre de plasma- en serumviscositeit afhankelijk zijn van de leeftijd en het geslacht. Dit zal ook voor de andere bepalingen worden nagegaan.

2. DE SELECTIE VAN PATIËNTEN EN VAN DE GEZONDE PROEFPERSONEN

Wij onderzochten in totaal 85 patiënten en 63 gezonde personen. Een deel van de patiënten werd in de studie opgenomen wanneer hun B.S.E. hoger dan 20 mm per uur was. Van deze groep was de ziekteoorzaak op drie na bekend.

Een ander deel van de patiënten had een normale B.S.E., zij werden op grond van hun ziekte in de studie opgenomen. De ziekteoorzaken van onze patiënten zijn in de verzameltabel achterin vermeld. In deze tabel staan ook de overige gegevens van deze patiënten.

Onze controlegroep groot 63 mensen werd niet verkregen door een aselechte steekproef uit de bevolking. Dit was om organisatorische redenen niet mogelijk. De meeste mensen werkten in het Dijkzigt ziekenhuis. Dit was het geval bij allen jonger dan 50 jaar en voor een deel van de mensen ouder dan vijftig jaar. Boven de zestig jaar waren de meeste controlepersonen afkomstig uit de polikliniek voor inwendige ziekten. Zij bezochten deze voor een arthrosis deformans, voor een hyperthyreoïdie (op het moment van bloedafname waren zij enige maanden euthyreotisch) of voor functionele klachten. Er bestonden geen aanwijzingen voor een tumorproces, een infectieziekte of een bindweefselziekte. Voor de gehele controlegroep gold, dat zij in de weken voor de bloedafname géén infectieziekte hadden doorgemaakt.



Figuur 9. De leeftijdsverdeling van de controle- en patiëntengroep.

In figuur 9 tonen wij de leeftijdsverdeling van de patiënten- en de controle-groep. In de patiëntengroep is een overheersing van de oudere leeftijden.

De beide geslachten zijn over beide groepen beter vergelijkbaar. In de groep patiënten zijn 39 vrouwen en 45 mannen, in de controlegroep 32 vrouwen en 31 mannen.

Uit de controlegroep zullen de normale waarden berekend worden. Ook zal worden nagegaan, welke invloed de leeftijd en het geslacht op de normale waarden hebben.

3. DE PROEFOPSTELLING

Bij de boven omschreven groep patiënten en gezonde personen namen wij op een gestandaardiseerde wijze bloed af. Het bloed werd snel (binnen 4 minuten) afgenomen met een voor bloeddonors bestemd bloedafnamesysteem van het Nederlandsche Roode Kruis. Er werd gestuwd met een bloeddrukmeter bij een manchetdruk van 80 à 90 mm Hg. In totaal werd ± 80 ml bloed afgenomen.

Uit het afgenomen bloed werden 11 bepalingen verricht. Deze bepalingen werden niet bij iedere patiënt in hun geheel uitgevoerd. De verzameltabel achterin geeft aan welke bepalingen bij iedere proefpersoon werden uitgevoerd. Alle nu volgende bepalingen werden in ons onderzoek verricht door één analyste.

1. Het haemoglobinegehalte en de haematocriet van het heparinebloed en het mechanisch gedefibrineerde bloed.
2. De bloedbezinkingssnelheid (B.S.E.).
3. De gedefibrineerde bloedbezinkingssnelheid (gedef. B.S.E.).
4. De B.S.E. van tot 40% haematocriet gecorrigeerd bloed.
5. De gedefibrineerde B.S.E. van tot 40% haematocriet gecorrigeerd bloed.
6. De plasmaviscositeit (P.V.) van heparineplasma.
7. De serumviscositeit (S.V.) van door stolling verkregen serum.
8. Het plasma fibrinogeengehalte volgens de methode van "Claus".
9. Het plasma fibrinogeengehalte volgens de "Weeg"-methode.
10. De serumelectrophorese (cellulose acetaat).
11. De quantitative bepaling volgens de radiale immunodiffusie methode (Mancini 1965) van de volgende eiwitten:
 - albumine
 - transferrine
 - α_1 -zure glycoproteïne
 - α_1 -antitrypsine
 - haptoglobine
 - IgG
 - IgA
 - IgM

4. DE UITVOERING VAN DE CHEMISCHE EN FYSISCHE BEPALINGEN

A. De viscositeitsbepaling van plasma en serum

De uitvoering van de bepaling

Wij bepaalden de viscositeit van plasma en serum in een Oswald-capillairmeter (geleverd door de firma Tamson N.V.). Van iedere capillairmeter werd een ijkfactor bepaald met behulp van ijkoliën met een bekende viscositeit, afkomstig van het fysisch-chemisch instituut T.N.O. te Utrecht. De snelheidsgradiënt, waarbij de viscositeit gemeten werd, is in ons type capillairmeter circa 1000^{-1} sec.

De viscositeit bepaalden wij door plasma of serum tot niveau a op te zuigen (figuur 10). Daarna werd de uitstroomtijd van de vloeistof a naar b in 0,1 seconde met een stopwatch (merk Leonidas) gemeten. Deze tijd vermenigvuldigt met de ijkfactor is de viscositeit van de vloeistof in centistokes bij 37° Celsius.

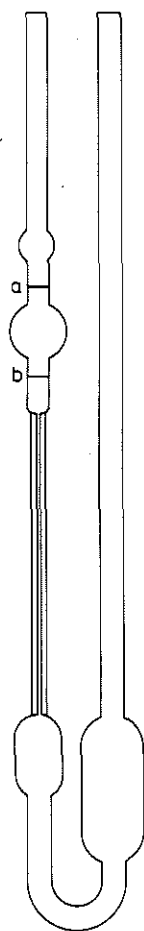
De metingen werden in een waterbad uitgevoerd, waarvan de temperatuur met een nauwkeurigheid van $0,1$ graad op 37° Celsius gehouden werd.

Voor het maken van plasma gebruikten wij met heparine onstolbaar gemaakt bloed. Dit werd met een vaste hoekrotor bij 1800 g gedurende 10 minuten afgedraaid. Het serum werd gedurende 10 minuten en na afschenken van het bloedstolsel nog 5 minuten met een vaste hoekrotor bij 1800 g afgedraaid.

Na iedere bepaling werden de capillairmeters achtereenvolgens schoongemaakt met fysiologisch zout, met bidest en met aceton. Zo nodig werden zij met een bichromaatoplossing schoongemaakt.

De fout van de bepaling

De fout van de viscositeitsbepaling van plasma en van serum werd berekend op grond van een aantal duplowaarnemingen. Tussen twee bepalingen in werd de capillairmeter gereinigd. Deze opstelling voor onze duplobepalingen werd gekozen, omdat ons inziens de grootste fout van de viscositeitsbepaling is gelegen in de verontreiniging van de buizen. In tabel V tonen wij U waarnemingsreeksen van 10 duplobepalingen met de berekende fout uitgedrukt in procenten van de gemiddelde waarden. Deze drie reeksen werden op een verschillend tijdstip van ons onderzoek bepaald.



Figuur 10. De doorsnede van de Oswald-capillairmeter.

Tabel V. Drie waarnemingsreeksen van 10 duplobepalingen van de plasmaviscositeit bij controlepersonen en patiënten in centistokes.

	Serie		
	I	II	III
	1.281	1.219	1.170
	1.281	1.207	1.170
	1.182	1.359	1.291
	1.182	1.360	1.291
	1.232	1.340	1.171
	1.232	1.331	1.171
	1.170	1.252	1.400
	1.170	1.242	1.400
	1.173	1.145	1.244
	1.173	1.133	1.244
	1.096	1.359	2.494
	1.096	1.359	2.484
	1.163	1.207	2.328
	1.173	1.207	2.316
	1.291	1.331	2.543
	1.291	1.340	2.543
	1.321	1.195	2.365
	1.311	1.195	2.377
	1.340	1.261	2.908
	1.340	1.262	2.908
Berekende fout	$\pm 0.2\%$	$\pm 0.4\%$	$\pm 0.1\%$

Op identieke wijze bepaalden wij de fout van de serumviscositeit. Ook deze kwam in dezelfde orde van grootte van ± 0.2 tot 0.4% . Overeenkomstig vroegere literatuurgegevens is ons gebleken, dat de viscositeitsbepaling een zeer nauwkeurige bepaling is (Harkness 1963). De bepalingfout is ook in overeenstemming met de opgave van de leverancier (0.2%).

De invloed van het bepalingstijdstip

Om na te gaan in hoeverre het tijdstip van de bepaling van invloed is op de plasma- en serumviscositeit, bepaalden wij deze gedurende enige opeenvolgende dagen: de zgn. variatiecoëfficiënt. Het plasma en serum werd bij 4° Celsius luchtdicht in een ijskast bewaard. Enige monsters werden bij -20° Celsius ingevroren. De resultaten van dit onderzoek geven wij voor plasma in tabel VI en voor serum in tabel VII.

De viscositeit van plasma en serum vertoont geen duidelijk verloop tijdens het bewaren bij 4° Celsius gedurende enige dagen. Zo was de gemiddelde variatiecoëfficiënt van plasma $\pm 0.4\%$ en van serum $\pm 0.6\%$. Deze waarden zijn een

Tabel VI. De uitstroomtijd, de viscositeit en de variatiecoëfficiënt van plasma, dat gedurende enige opeenvolgende dagen bewaard is bij 4° Celsius; de viscositeit van plasma na invriezen.

Dag nr.	1	2	3	4	5	6	7	variatie- coëfficiënt in %	* na in- vriezen
Plasmamonster nr.									
I t. **	125	126	125.5	124	126.5	127	126.5	± 0.8	177
P.V. ***	1.490	1.501	1.501	1.478	1.513	1.513	1.501		1.394
II t.	166	167	167.5	164.5	167.5	168	168.5	± 0.7	169
P.V.	1.636	1.646	1.656	1.626	1.656	1.656	1.656		1.666
III t.	106	107	107	105	166.5	108	107	± 0.9	106
P.V.	1.305	1.318	1.318	1.293	1.318	1.330	1.318		1.305
IV t.	119	119	119	120	-	-	-	± 0.4	
P.V.	1.418	1.418	1.418	1.430	-	-	-		
V t.	139	138.5	139	139.5	-	-	-	± 0.4	
P.V.	1.370	1.370	1.370	1.380	-	-	-		
VI t.	126	127	127	127	-	-	-	± 0.4	
P.V.	1.552	1.564	1.564	1.564	-	-	-		
VII t.	123	122.8	122.3	123.1	-	-	-	± 0.2	123.8
P.V.	1.466	1.466	1.459	1.467	-	-	-		1.475
VIII t.	153	151.8	151.3	151.9	-	-	-	± 0.5	146.3
P.V.	1.508	1.497	1.491	1.497	-	-	-		1.455
IX t.	102.5	102.6	102.3	102.5	-	-	-	± 0.2	102.6
P.V.	1.264	1.264	1.260	1.264	-	-	-		1.265
X t.	102.3	102.3	102.5	-	-	-	-	± 0.1	
P.V.	1.219	1.219	1.221	-	-	-	-		
XI t.	147.6	146.6	146.7	146	-	-	-	± 0.4	143.1
P.V.	1.455	1.455	1.447	1.445	-	-	-		1.408

* variatiecoëfficiënt : de S.D. uitgedrukt in procenten van het gemiddelde

** t. : doorstroomtijd in seconden

*** P.V. : plasmaviscositeit in centistokes

fractie hoger dan de bepalingfout (± 0.2 à 0.4%).

Wat betreft het invriezen van plasma en serum, lijkt dit voor het laatste zonder bezwaren te kunnen. In één plasmamonster (nr.I) zagen wij grote precipitatievlokken na het ontdooien. De gemeten P.V.-waarde was aanzienlijk lager dan de oorspronkelijke.

Tabel VII. De uitstroomtijd, de viscositeit en de variatiecoëfficiënt van serum, dat gedurende enige opeenvolgende dagen bewaard is bij 4° Celsius; de viscositeit van serum na invriezen.

Dag nr.	1	2	3	4	5	6	7	variatie- [*] coëfficiënt in %	na invriezen
Serummonster									
nr.									
I t. ^{**}	101	101	102	102	102	102.5	103		101
S.V. ^{***}	1.203	1.203	1.215	1.215	1.215	1.227	1.227	± 0.7	1.203
II t.	94.5	94	95	95	94	95	96		94
S.V.	1.170	1.158	1.170	1.170	1.158	1.170	1.182	± 0.7	1.158
III t.	123.5	122.5	123	123.5	124	124.5	-		125
S.V.	1.222	1.212	1.212	1.222	1.222	1.232	-	± 0.7	1.232
IV t.	104	104	104.5	105	105	-	-		103.3
S.V.	1.239	1.239	1.251	1.251	1.251	-	-	± 0.5	1.231
V t.	91	91	91.5	92	92	-	-		
S.V.	1.084	1.084	1.096	1.096	1.097	-	-	± 0.6	
VI t.	118.5	118.8	118.9	119.6	119.5				
S.V.	1.169	1.171	1.173	1.179	1.178			± 0.3	
VII t.	97.6	95.6	95.8	96.5	95.9				
S.V.	1.202	1.179	1.179	1.187	1.182			± 0.8	
VIII t.	103.4	104.4	104.4	103.9	-				
S.V.	1.230	1.244	1.245	1.238	-			± 0.5	
IX t.	101.4	102	102.1	102.5	-				
S.V.	1.208	1.203	1.218	1.222	-			± 0.5	

* variatiecoëfficiënt : de S.D. uitgedrukt in procenten van het gemiddelde
 ** t. : doorstroomtijd in seconden
 *** S.V. : serumviscositeit in centistokes

De invloed van de stollingsduur op de serumviscositeit

Om uit te maken in hoeverre de serumviscositeit wordt beïnvloed door de duur van het stollingsproces, vergeleken wij van verschillende patiënten de serumviscositeit van serum na één en vier uur stollen. Deze waarden geven wij weer in tabel VIII.

Uit de door ons verrichte experimenten blijkt ons inziens, dat de duur van het stollingsproces geen belangrijke variabele is. Dit feit is vooral van belang bij het onderzoek van het verschil tussen de viscositeit van plasma en serum als fibrinogeenbepaling.

Tabel VIII. De invloed van de duur van het stollingsproces op de serumviscositeit.

Monster nr.	S.V. na één uur stollen in cst.	S.V. na vier uur stollen in cst.
I	1.215	1.203
II	1.202	1.222
III	1.227	1.239
IV	1.048	1.058
V	1.158	1.170
VI	1.158	1.168
VII	1.161	1.169
VIII	1.208	1.202

De gemiddelde procentuele fout $\pm 0.7\%$.

Conclusie

In overeenstemming met de literatuur (o.a. Harkness 1963) is de bepaling van de viscositeit van plasma en serum een nauwkeurige bepaling. De berekende fout is in de orde van grootte van ± 0.2 tot 0.4% .

Tijdens bewaren gedurende enige dagen bij 4° Celsius verandert de plasma- en serumviscositeit niet. De gemiddelde variatiecoëfficiënt is in de orde van grootte van de bepalingfout. Het tijdstip van bepaling is geen belangrijke variabele. De viscositeit van plasma bepaald na invriezen bij -20° C is een onbetrouwbare waarde. Tenslotte is de duur van het stollingsproces niet van invloed op de serumviscositeit.

B. De andere bepalingen

De andere bepalingen zullen nu worden beschreven. De fout van deze bepalingen is in tabel IX weergegeven.

1. Het *haemoglobinegehalte* en de *haematocriet* werden bepaald uit heparinebloed en het (mechanisch) gedefibrineerde bloed. Het haemoglobinegehalte volgens de cyaan-haemoglobinemethode (van Kampen 1961) en de haematocriet met de micro-centrifugemethode.

2. De *bloedbezinkingssnelheid* werd bepaald volgens de methode van Westergren (1924).

De bloedbezinkingssnelheid werd steeds in dezelfde ruimte gemeten bij een temperatuur, die varieerde over het jaar van 21 tot 23° Celsius. De B.S.E. werd uitgedrukt in mm per uur. Alle gebruikte buizen werden van tevoren met gedistilleerd water en aceton schoongemaakt.

De boven beschreven methode (Westergren 1924) werd ook gebruikt voor de bepaling van de gedefibrineerde B.S.E. en voor de op een haematocriet van

40% gecorrigeerde bezinking en gedefibrineerde bezinking (40% wil zeggen een volumefractie van 0.40 l/l).

3. De *gedefibrineerde bezinkingssnelheid*.

Voor het defibrineren van bloed gebruikten wij de methode zoals die door Groen (1953) in zijn dissertatie werd beschreven. Het bloed (20 ml) werd opgevangen in een erlemeyer van 100 ml; op de bodem lagen ± 20 glasparels. In totaal werd er gedurende 10 minuten gedefibrineerd. Direct na 10 minuten werd het bloed gescheiden van het fibrinestolsel. Uit het gedefibrineerde bloed werd een B.S.E. bepaald volgens de methode van Westergren (1924).

Opmerking: Deze snelle scheiding is nodig, omdat ons gebleken is, dat er reeds 5 minuten na het stoppen van het defibrineren een aanzienlijke daling van het haemoglobinegehalte van het gedefibrineerde bloed ontstond. Dit komt vermoedelijk door adhaesie van de erythrocyten aan het gevormde stolsel.

4. De *bezinkingssnelheid van het op 40% haematocriet gecorrigeerde bloed*.

Voor de correctie van de haematocrietwaarde tot 40% werd heparinebloed gebruikt. Na het afdraaien van het bloedmonster in een hoekrotor bij 1800 g werd er afhankelijk van de reeds bepaalde haematocrietwaarde eigen plasma afgezogen of toegevoegd, zodanig dat de verhouding plasma : erythrocyten 6 : 4 werd.

Het gedefibrineerde bloed werd op identieke wijze behandeld. Vervolgens werd met de methode volgens Westergren (1924) de valsnelheid van de erythrocyten in mm/uur bepaald.

5. De *fibrinogeenbepaling volgens de "Weeg"-methode*.

Onze methode is een gewijzigde versie van Gram (1921). Er werd uitgegaan van bloed, dat onstolbaar was gemaakt met natriumcitraat (3.8 g/100 ml). De verhouding van natriumcitraat : bloed was 1 : 10. Het bloed werd 10 minuten bij 1800 g in een hoekrotor afgedraaid.

Vervolgens werd aan 4 ml plasma 0.4 ml van een thrombine oplossing (Topastatine: geleverd door de firma Hoffman-La Roche; 1 ml = 500 N.I.H.-eenheden) en 1 ml van een trasyloloplossing (geleverd door Bayer; 1 ml = 10.000 K.I.E.) toegevoegd. Na 15 minuten werd het stolsel uit het plasma gehaald en uitgeknepen tussen filtreerpapier. Vervolgens werd dit stolsel drie maal één minuut gewassen in fysiologisch zout, drie maal één minuut in bidest en vijf minuten in alcohol. Voor het wassen gebruikten wij van iedere vloeistof ± 10 ml. Daarna werd het stolsel gedurende $1\frac{1}{2}$ uur bij 100° Celsius gedroogd en gewogen op een micro balans tot op 0.1 mg nauwkeurig.

Alle in het onderzoek genoemde waarden zijn het gemiddelde van twee bepalingen. Eén deel van de bepalingen werd op de dag van afname uitgevoerd, één deel na invriezen bij -20° Celsius.

6. De *fibrinogeenbepaling volgens "Clauss"*.

Wij bepaalden het fibrinogeengehalte naar het voorschrift van Clauss

(1957). Alleen gebruikten wij natriumcitraat als anticoagulans in plaats van kaliumoxalaat.

Ook hier werd een deel van de bepalingen op de dag van afname en een deel na invriezen bij -20° Celsius uitgevoerd.

7. De *electrophorese van serum* werd op cellulose-acetaat uitgevoerd. Er werd hierbij gebruik gemaakt van het Beckmann microzône systeem. De kleuring van de strips gebeurde met Ponceau rood. De strips werden op een densitometer doorgemeten. (De analyse werd uitgevoerd op het Centraal Clinisch Chemisch Laboratorium van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt).

8. De *quantitatieve bepaling van de serumeiwitten* werd gedaan volgens de radiale immunodiffusiemethode van Mancini (1965). Hij werd uitgevoerd op Partigen platen van de firma Behring-Werke. Het standaard humaan serum van Behring-Werke werd als referentieserum gebruikt.

5. DE INVLOED VAN LEEFTIJD EN GESLACHT OP ONZE NORMALE WAARDEN

A. Inleiding

In 1963 schreef Harkness, dat één van de voordelen van de plasmaviscositeit was, dat deze bepaling i.t.t. de B.S.E. niet afhankelijk van leeftijd en geslacht is. Deze uitspraak hebben wij nergens in een onderzoek gestaafd gezien en is waarschijnlijk niet juist, gezien de publicaties van Steinmann (1964) en Schulz (1956) over de relatie tussen het fibrinogeengehalte en de leeftijd. Zij beschreven een stijging van het normale fibrinogeengehalte na het 55e jaar. Aangezien wij in het voorafgaande hoofdstuk beschreven hebben, dat het fibrinogeen met zijn hoge intrinsieke viscositeit een relatief grote bijdrage aan de P.V. levert, is het waarschijnlijk, dat de P.V.-waarde op oudere leeftijd hoger zal zijn. Dit in overeenstemming met de B.S.E. (Böttinger 1967). In zijn onderzoek van een grote bevolkingsgroep vond Böttinger ook een significant hogere B.S.E. bij vrouwen.

In de literatuur hebben wij weinig gegevens over de invloed van leeftijd en geslacht op de overige in ons onderzoek bepaalde plasma-eiwitten gevonden. Wel werd er een stijging van het IgG- en het IgA-gehalte beschreven bij het ouder worden (o.a. Kalff 1970). Andere auteurs vonden deze stijging niet (o.a. Norberg 1967). Het IgM-gehalte is bij vrouwen significant hoger (Kalff 1970). Clarke (1968) bestudeerde bij 100 mannen en 100 vrouwen tussen de 16 en 65 jaar oud de invloed van leeftijd en geslacht op een groot aantal serumeiwitten met de Laurell-methode. Hij vond een significant verschil tussen mannen en vrouwen voor het α_1 -lipoproteïne, het α_2 -macroglobuline en het ceruloplasmine. Het gehalte van het α_2 -macroglobuline, het haptoglobine en het ceruloplasmine steeg significant met het ouder worden.

In dit hoofdstuk zullen wij van onze controlegroep (zie paragraaf 2) de normale waarden bepalen. Door de groep te verdelen in één jonger dan 50 jaar en

één ouder dan 50 jaar kunnen wij tevens nagaan of de leeftijd en het geslacht met name de viscositeitswaarden beïnvloeden.

B. De normale waarden, de fout van de bepalingen en de invloed van leeftijd en geslacht

De normale waarden, d.w.z. het gemiddelde met het 95% betrouwbaarheidsinterval, hebben wij voor twee leeftijdsgroepen berekend. De eerste groep bevat 31 mensen tussen de 20 en 50 jaar, de tweede groep 32 mensen ouder dan 50 jaar (zie figuur 9). De normale waarden van de P.V., de S.V. en de " δV ." zijn berekend uit de gehele, de overige uit een gedeelte van de contrôlegroep. In de verzameltabel achterin is te zien welke mensen van de contrôlegroep voor deze berekening werden gebruikt. De keuze was zodanig, dat de verschillende leeftijdsklassen gelijkelijk waren vertegenwoordigd.

In tabel IX geven wij de normale waarden en de bepalingfout (berekend uit 15 duplowaarden). Tevens of de verschillen tussen de twee leeftijdsgroepen significant * zijn (Studenttest). In ons materiaal vonden wij *geen significante verschillen* tussen de *twee geslachten*. Van de B.S.E. zullen wij gezien het beschreven significante verschil (Böttinger 1967) wel de normale waarden voor mannen en vrouwen geven.

Er werden significante verschillen tussen de leeftijdsgroepen gevonden voor de P.V., de S.V., de " δV ", de B.S.E., het fibrinogeengehalte volgens de Weeg- en de Clauss-methode, het α_2 -globuline, het β -globuline, het haptoglobine, het α_1 -antitrypsine, het IgG en het IgA. Vooral de verschillen van de P.V., het fibrinogeen- en het haptoglobinegehalte zijn opmerkelijk. Er werden geen significante verschillen gevonden voor het albumine (serumelectrophorese), het α_1 -globuline, het γ -globuline, het α_1 -zure glycoproteïne en het IgM.

C. Bespreking

Bij een onderzoek als dat van ons, waarbij een aantal bepalingsmethoden worden vergeleken wat betreft hun gevoeligheid om veranderingen in de samenstelling van de eiwitten te signaleren, zijn de gebruikte normale waarden mede bepalend voor de uitslag van zo'n onderzoek. De meest ideale contrôlegroep is er één, die "at random" uit de Rotterdamse populatie zou zijn getrokken. Dit was ons om organisatorische redenen niet mogelijk. Behalve dat er bij de samenstelling van een goede contrôlegroep het criterium van aselectiviteit nodig is, is er bij ons onderzoek ook het criterium van gezondheid nodig. Bij een onderzoek naar de veranderingen in de plasma-eiwitten bij ziekteprocessen is het belangrijk, dat er in de contrôlegroep geen mensen zijn opgenomen, die een ziekte hebben, die veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten geven.

* In ons onderzoek noemen wij een verschil significant als de overschrijdingskans kleiner dan 5% is.

Tabel IX. De normale waarden en de bepalingfout van twee naar leeftijd ingedeelde controlegroepen. Tevens de p-waarde (Student-test) die aangeeft of de gevonden verschillen significant zijn.

Bepaling	20 - 50 jaar		50 - 80 jaar		p	Fout van de bepaling in % van het gemiddelde
	n*	\bar{x}^{**} ± 2 S.D.	n	\bar{x}^{**} ± 2 S.D.		
B.S.E. vrouwen mm/uur	14	5 1-10	18	9 1-20	< 0.005	± 8
B.S.E. mannen mm/uur	17	2 1-7	14	7 1-13	< 0.0005	± 8
B.S.E. gedef.	-	< 5	-	< 5	-	-
P.V. (cst)	31	1.228 1.126-1.330	32	1.313 1.185-1.441	< 0.0005	± 0.2-0.4
δV. (cst)	31	0.085 0.051-0.119	32	0.135 0.083-0.187	< 0.0005	-
S.V. (cst)	31	1.142 1.066-1.218	32	1.178 1.092-1.264	< 0.0005	± 0.2-0.4
Fibr. Weeg mg/100 ml	29	242 154-330	31	339 217-461	< 0.0005	± 6
Fibr. Clauss mg/100 ml	30	184 108-260	31	251 169-333	< 0.0005	± 5
Totaal eiwit g/l	19	74.2 65.0-83.4	19	76.2 68.8-83.6	n.s.	-
SERUM-ELECTROPHORESE						
Alb. g/l	19	50.0 42.4-57.6	18	50.4 44.4-56.4	n.s.	± 2.5
α ₁ -glob. g/l	19	1.4 0.4-2.4	18	1.4 0.2-2.6	n.s.	± 18
α ₂ -glob. g/l	19	5.5 2.9-8.1	18	6.7 4.9-8.5	< 0.0005	± 11.6
β-glob. g/l	19	7.0 4.8-9.2	18	8.3 5.1-11.5	< 0.0005	± 13
γ-glob. g/l	19	10.2 4.8-15.6	18	10.6 3.8-17.4	n.s.	± 11.7
MANCINI-ONDERZOEK						
α ₁ -zure glyc. mg/100 ml	9	78 50-106	18	76 50-102	n.s.	± 5
α ₁ -antitr. mg/100 ml	9	246 168-324	18	288 174-402	< 0.025	± 5
Haptoglob. mg/100 ml	9	121 19-223	18	239 39-439	< 0.0005	± 5
IgG mg/100 ml	9	929 463-1391	18	1170 520-1820	< 0.025	± 5
IgA mg/100 ml	9	208 124-282	18	274 50-498	< 0.05	± 5
IgM mg/100 ml	9	135 13-257	18	135 25-285	n.s.	± 5

* n = het aantal onderzochte proefpersonen. ** \bar{x} = de gemiddelde waarde

Dit gezondheidscriterium is redelijk goed te hanteren bij mensen onder de vijftig jaar; moeilijker wordt het bij de groepen ouder dan zestig jaar. De kans, dat bij oudere mensen een zich klinisch nog niet gemanifesteerde ziekte bestaat, is groot. Voor het grootste deel betrokken wij onze oudere patiënten uit de polikliniek Inwendige Geneeskunde. Bij deze patiënten bestonden geen ziekten, die aanleiding gaven tot veranderingen in de plasma-eiwitten. Zij waren wat dat betreft op de polikliniek nagekeken. Zo'n onderzoek zou niet plaats hebben gevonden bij een aselechte steekproef. Wat betreft het gezondheidscriterium is onze contrôlegroep mogelijk beter, dan één die "at random" getrokken zou zijn.

Onze bevindingen, dat het gehalte van een aantal eiwitten met de leeftijd stijgt, is in overeenstemming met literatuurgegevens. Dit werd beschreven voor de B.S.E. (Böttinger 1967), het fibrinogeen (Steinmann 1964, Schulz 1951), het haptoglobine (Clarke 1968), het IgG en het IgA (Kalff 1970). Ook in overeenstemming met de literatuur is het niet stijgen van het IgM-gehalte (Kalff 1970). Geen gegevens vonden wij in de literatuur over de P.V., de S.V., de " δV ", het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine en de fracties van de serumelectrophorese. Schwick (1965) schreef, dat er nog weinig bekend was over de normale waarden van het plasma-eiwitgehalte bij oudere mensen. Ook uit ons onderzoek mag men niet met zekerheid concluderen, dat de gevonden relatie tussen de leeftijd en het gehalte van een aantal eiwitten bewezen is. Hiervoor is een aparte opzet nodig, met een grotere aselechte getrokken groep proefpersonen.

Het stijgen van de P.V. met de leeftijd is in tegenspraak met de conclusie van Harkness (1963), dat de P.V.-waarde onafhankelijk van de leeftijd is. De stijging is wel te begrijpen uit het feit, dat het fibrinogeen stijgt. Het verloop van de S.V. met de leeftijd werd ons inziens niet eerder onderzocht.

Samenvattend zouden wij willen stellen, dat wat ons uit de literatuur bekend is over de invloed van de leeftijd op het plasma-eiwitgehalte (of een afgeleide daarvan, b.v. de B.S.E.) in onze contrôlegroep ook werd gevonden. Dit is ons inziens een aanwijzing, dat onze contrôlegroep redelijk representatief is als steekproef uit de populatie, ondanks het feit, dat deze niet aselectief was.

6. SAMENVATTING

In dit hoofdstuk werd de proefopstelling besproken. Van de gebruikte methoden werd gezien de aard van ons onderzoek dieper ingegaan op de bepaling van de viscositeit van plasma en serum. In overeenstemming met de literatuur vonden wij, dat deze bepaling uiterst nauwkeurig is. Verder is deze niet afhankelijk van het tijdstip van de bepaling. De viscositeitsbepaling van ingevroren plasma is onbetrouwbaar.

Enige problemen hadden wij bij de samenstelling van onze contrôlegroep. Deze werd samengesteld uit mensen werkzaam in het ziekenhuis en patiënten, die de polikliniek Inwendige Geneeskunde bezochten. Overeenkomstig de litera-

tuurgegevens vonden wij, dat het gehalte van een aantal plasma-eiwitten hoger was op oudere leeftijd. Ook de P.V.-, de S.V.- en de "δV"-waarden zijn significant hoger bij oudere mensen.

Geconcludeerd werd dat, ondanks het ontbreken van "aselectiviteit", onze controlegroep een redelijke afspiegeling is van de gezonde populatie.

Tenslotte geven wij in tabel X de belangrijkste gegevens over de P.V., de S.V. en de "δV".

Tabel X. Verzameltabel van de belangrijkste gegevens over de P.V., de S.V. en de "δV."

	P.V.	S.V.	"δV."
1. De nauwkeurigheid in procenten van het gemiddelde	± 0.2-0.4	± 0.2-0.4	-
2. De variatiecoëfficiënt in procenten van het gemiddelde	± 0.4	± 0.6	-
3. De gemiddelde waarde en het 95% betrouwbaarheidsinterval van mensen jonger dan 50 jaar (in cst)	1.228 1.126-1.330	1.142 1.066-1.218	0.085 0.051-0.119
4. De gemiddelde waarde en het 95% betrouwbaarheidsinterval van mensen ouder dan 50 jaar (in cst)	1.313 1.185-1.441	1.178 1.092-1.264	0.135 0.083-0.187
5. Afhankelijk van de leeftijd	+	+	+
6. Afhankelijk van het geslacht	-	-	-

HOOFDSTUK V

DE RELATIE TUSSEN DE PLASMAVISCOSITEIT EN DE BLOEDBEZINKING

1. INLEIDING

In de kliniek gebruikt men de B.S.E. en de P.V. voor het aantonen en het vervolgen van de activiteit van een ziekteproces. Zij zijn een objectieve aspecifieke indicator voor veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten. Vooral groot moleculaire eiwitten als het IgM en het fibrinogeen zijn in dit opzicht belangrijk. Uit de beschrijving van deze "screening"-methoden in hoofdstuk III weten wij, dat de B.S.E. van meer variabelen afhankelijk is dan de P.V.

De P.V.-bepaling werd als "screening"-methode geïntroduceerd door Miller en Whittington (1942) en eerder al door T'Ang en Wang (1940). Een aantal onderzoekers vonden, dat de P.V. beter de klinische activiteit van een ziekteproces weergaf dan de B.S.E. (o.a. Harkness 1946 en 1963, Houston 1948, Woodmansey 1948, Cowan 1947). Zij bestudeerden vooral chronische ziekteprocessen zoals longtuberculose en chronische rheumatoïde arthritis.

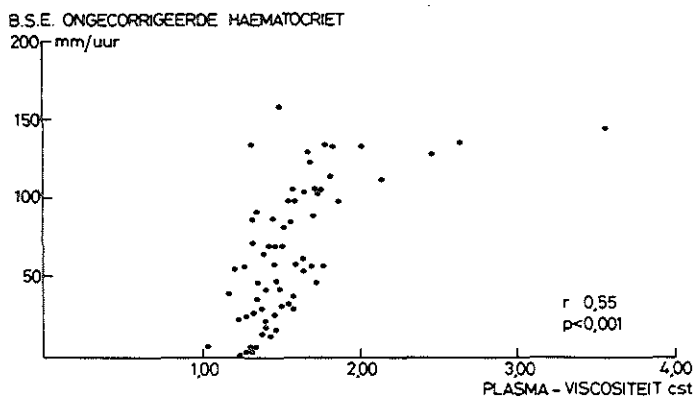
Bij de bestudering van de relatie tussen de B.S.E. en de P.V. werd in het algemeen een grove, significant positieve correlatie gevonden (Hardwicke 1952, Woodmansey 1948, Gibson 1949, Houston 1949). Deze correlatie werd ook door Eastham (1954) gevonden. Eastham vond verder, dat de B.S.E.-waarden van drie patiënten met een hoge plasmaviscositeit niet aan deze correlatie voldeden. In zijn artikel suggereerde hij, dat de P.V. voor het vervolgen van patiënten met hoog visceuze plasma's waarschijnlijk beter is dan de B.S.E.

In ons eigen onderzoek hebben wij het verband tussen de B.S.E. en P.V. bij een aantal patiënten met een verschillende ziekte-oorzaak bekeken. Onze vraagstelling was hierbij in hoeverre de P.V. voordelen heeft boven de één uurs bezinking en wel speciaal bij hoog visceuze bloedmonsters.

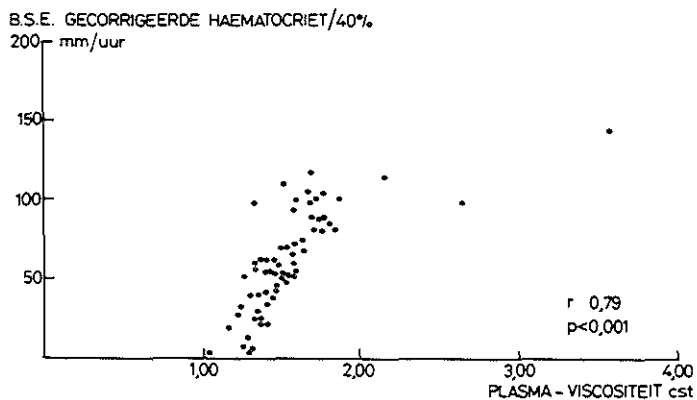
2. EIGEN WAARNEMINGEN

Voor dit onderzoek werden alleen patiënten gebruikt waarbij de B.S.E., de gecorr. B.S.E. en de P.V. tegelijk werden bepaald. Welke patiënten dit zijn staat vermeld in de verzameltabel achterin (kolom hoofdstuk V). In totaal betreft het 60 patiënten.

In de figuren 11 en 12 worden respectievelijk de relatie tussen de P.V. en de B.S.E. en tussen de P.V. en de op 40% haematocriet gecorrigeerde B.S.E. weergegeven. In figuur 11 zijn drie patiënten, de nrs. 43, 44 en 45 extra ingetekend. Dit zijn drie patiënten met een hoge plasmaviscositeit.



Figuur 11. De relatie tussen de B.S.E. en de plasmaviscositeit.



Figuur 12. De relatie tussen de op 40% haematocriet gecorrigeerde B.S.E. en de plasmaviscositeit.

A. De relatie tussen de B.S.E. en de plasmaviscositeit

Zowel figuur 11 als 12 laat zien, dat de relatie tussen de één uurs B.S.E. en de P.V. niet rechtlijnig is. Bekijkt men de plasmamonsters (in totaal 55) met een viscositeit lager dan 1.80 cst. dan ziet men, dat er een rechtlijnig verband wordt benaderd. Over dit deel van de curve is er een significant positieve correlatie. De correlatiecoëfficiënt tussen de P.V. en de B.S.E. is 0.55 ($p < 0.001$), tussen de P.V. en gecorr. B.S.E. is hij veel hoger nl. 0.79 ($p < 0.001$). Bij plasmamonsters met een viscositeit boven de 1.80 cst. ziet men geen verdere stijging van de één uurs B.S.E.-waarde. Dit waren bloedmonsters, die afkomstig waren van patiënten met een Morbus Kahler of Waldenström.

Het resultaat van het eerste deel van de curve is in overeenstemming met de gevonden significant positieve correlatie door reeds in de inleiding genoemde auteurs (Hardwicke 1952, Woodmansey 1948, Gibson 1949, Houston 1949). Deze baseerden hun conclusies op grond van hun onderzoek bij patiënten met een longtuberculose of chronische rheumatoïde arthritis. Dit zijn patiënten, die in het algemeen een P.V. lager dan 1.80 cst. hebben.

Het feit, dat men bij plasma's met een hoge viscositeit geen verdere stijging van de B.S.E. ziet, bevestigt het vermoeden van Eastham (1954), dat bij patiënten met een hoge P.V.-waarde de B.S.E. een ongeschikte indicator is voor het vervolgen van de veranderingen in het eiwitspectrum bij deze groep patiënten.

B. De invloed van de haematocriet

In hoofdstuk III werd naar voren gebracht, dat het aantal erythrocyten op twee manieren de B.S.E. beïnvloedt. Dit aantal bepaalt in belangrijke mate de bloedviscositeit (zie blz. 26, Hoofdstuk III) en daarnaast het punt waarop phase III van de bezinkingscurve de "packing"-phase begint.

Bij een correctie van de haematocriet van alle bloedmonsters op 40% elimineert men de invloed van het aantal erythrocyten als variabele op de B.S.E. Vergelijkt men nu figuur 11 met figuur 12 dan ziet men na correctie van de haematocriet, dat de spreiding van de B.S.E.-waarden minder groot wordt, hetgeen tot uitdrukking komt in een aanzienlijk hogere correlatiecoëfficiënt. Deze bevinding toont eens te meer aan, hoe sterk de B.S.E. door het aantal erythrocyten mede bepaald wordt.

De invloed, die de haematocriet heeft op de "packing"-phase blijkt wanneer men de maximale B.S.E.-waarden van het gecorrigeerde bloed vergelijkt met die van het ongecorrigeerde. De eerste liggen in de buurt van de 120 mm/uur. De hoogste B.S.E.-waarden van het ongecorrigeerde bloed zijn veel hoger. Zij zijn afkomstig van patiënten nr. 35, 49 en 81 (zie verzameltabel achterin) met een B.S.E. van respectievelijk 154, 144 en 160 mm/uur. De bijbehorende haematocrietwaarden zijn respectievelijk 22, 27 en 17%. Behalve een ernstige anaemie hadden deze patiënten een samenstelling van hun plasma-eiwitten die de geldrolvorming sterk bevorderde. Bij deze patiënten wordt de uiteindelijke hoogte van

de één uurs B.S.E. voor een groot deel bepaald door de haematocriet.

Een dergelijke invloed op de "packing"-phase van de één uurs B.S.E. zien wij ook bij patiënten met een P.V. hoger dan 1.80 cst. Van 8 patiënten geven wij de B.S.E., de haematocrietwaarde en de P.V. weer in tabel XI. De patiënten zijn gerangschikt volgens hun haematocrietwaarde.

Tabel XI. De B.S.E., de haematocriet en de P.V. van 8 patiënten met een plasmaviscositeit hoger dan 1.80 cst.

Patiënt	B.S.E. (mm/uur)	Haematocriet (l/l x 10 ²)	P.V. (cst)
1	144	27	2.90
2	136	27	1.83
3	137	28	2.64
4	135	29	2.02
5	130	34	2.46
6	114	36	2.15
7	116	37	1.82
8	100	39	1.87

Bij onderzoek met de rangcorrelatietoets van Kendall bestaat er een significant negatieve correlatie tussen de B.S.E. en de haematocriet ($p < 0.02$). Deze werd niet gevonden tussen de B.S.E. en de P.V. Het aantal patiënten is te klein om met zekerheid een uitspraak te doen. De resultaten suggereren, dat de één uurs B.S.E. van bloedmonsters met een plasmaviscositeit hoger dan 1.80 cst. vooral door de haematocrietwaarde wordt bepaald. Dit is voor de praktijk van belang bij de behandeling van patiënten met de ziekte van Waldenström of Kahler met cytostatica. Het is bekend dat hierbij het haemoglobinegehalte aanzienlijk kan veranderen. Het effect van therapie bij deze patiënten is dan ook beter met de P.V. te vervolgen dan met de één uurs B.S.E..

Dit fenomeen is te verklaren, indien men de drie fasen van de bezinkings-curve beschouwt. Bij patiënten met een hoge plasmaviscositeit t.g.v. een hoog fibrinogeen-, IgM- of IgG-gehalte zal de eerste phase (pre-agglutinatiefase) kort zijn, de gevormde geldrollen zullen groot zijn, zodat zij in de tweede phase (agglutinatiefase) snel zullen uitzakken. Zakken de geldrollen zo snel uit, dat zij binnen het uur de "packing"-phase bereiken, dan wordt de B.S.E. in belangrijke mate door de haematocriet bepaald. Een verdere verandering van het eiwitpectrum resulterend in grotere geldrollen zal géén hogere B.S.E. geven. Vooral veranderingen van de haematocrietwaarden zullen bij deze patiënten de één uurs B.S.E. bepalen.

3. WAARNEMINGEN BIJ TWEE PATIËNTEN MET EEN HOGE PLASMA-VISCOSITEIT

In paragraaf 2 A stelden wij op grond van de gevonden relatie tussen de B.S.E. en de P.V., dat de B.S.E. een ongeschikte "screening"-methode is voor patiënten met een hoog visceus plasma. Om deze conclusie te toetsen hebben wij bij twee patiënten een longitudinale studie verricht. Eén patiënt had de ziekte van Kahler (IgG-paraproteïnaemie), de andere patiënt macroglobulinaemie van Waldenström.

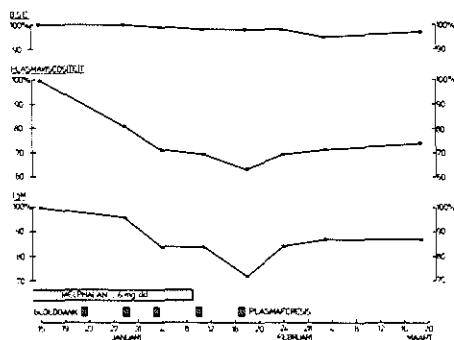
In tabel XII tonen wij de gegevens van de patiënt met de ziekte van Kahler, die periodiek werd behandeld met melphalan.

Tabel XII. Drie waarnemingen van de B.S.E., de P.V., de haematocriet en het gamma-globulinengehalte bij een patiënt met de ziekte van Kahler.

Waarneming	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst)	Haematocriet (l/l x 10 ²)	γ-globulinen (g/l)
1	92 (100%)	1.919 (100%)	31	55.2 (100%)
2	137 (149%)	2.646 (138%)	30	81.0 (146%)
3	121 (132%)	1.656 (86%)	26	42.0 (76%)

Uit deze drie waarnemingen blijkt, dat de P.V.-waarde het verloop van het gammaglobulinengehalte op de voet volgt en dat de B.S.E. dit niet doet. De laatste relatief hoge B.S.E. van 121 mm/uur komt waarschijnlijk door een daling van het haemoglobinegehalte t.g.v. de therapie met melphalan.

Een betere illustratie is de patiënt met de ziekte van Waldenström. Zijn gegevens worden in figuur 13 getoond. Een snelle verandering van het IgM-gehalte bij deze patiënt werd verkregen door wekelijks plasmaferesis.



Figuur 13. Het verloop van de B.S.E., de P.V. en het IgM-gehalte tijdens behandeling met plasmaferesis en melphalan.

Uit figuur 13 blijkt, dat de toch aanzienlijke verandering van het IgM-gehalte niet tot uitdrukking komt in een verandering van de B.S.E.-waarde. Men kan dan ook stellen, dat de één uurs B.S.E.-waarde als "Screening"-methode bij patiënten met hoog visceuze plasma's onbruikbaar is.

4. NABESCHOUWING

De onderzoekers, die de P.V. boven de B.S.E. prefereerden als indicator voor de activiteit van een ziekteproces, bepaalden de mate van activiteit op klinische gronden. Het is bekend, dat dit een subjectief gebeuren is, zodat er gemakkelijk kritiek op dit soort onderzoeken is te leveren.

In ons eigen onderzoek hebben wij de P.V. en B.S.E. vergeleken bij patiënten met een hoge plasmaviscositeit; nl. patiënten die leden aan de ziekte van Kahler of Waldenström. De activiteit van deze ziekten wordt weerspiegeld in de veranderingen van het paraproteïnegehalte. Uit onze studie blijkt, dat de P.V. bij deze ziekten de veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten volgde en dat de B.S.E. dit niet deed. De P.V. lijkt ons daarom een betere methode dan de B.S.E. om de activiteit van dit soort ziekteprocessen te vervolgen.

Op grond van ons onderzoek mag men niet concluderen, dat dit ook opgaat voor patiënten met een lagere plasmaviscositeit (onder de 1.80 centistokes) maar dit is wel waarschijnlijk. De B.S.E. wordt nl. door een veel groter aantal variabelen beïnvloed dan de P.V.

5. CONCLUSIES

1. De relatie tussen de B.S.E. (in mm/uur) en de P.V. (in centistokes) is niet rechtlijnig.
2. De relatie tussen de B.S.E. en de P.V. bij bloedmonsters met een plasma-viscositeit lager dan 1.80 cst. is bij benadering rechtlijnig en significant positief ($r = 0.55$ en $p < 0.001$).
3. De correctie van de haematocriet van de bloedmonsters tot 40% resulteert in een veel hogere correlatiecoëfficiënt ($r = 0.79$, $p < 0.001$) hetgeen nogmaals aangeeft in hoe sterke mate de haematocrietwaarde de B.S.E. kan beïnvloeden.
4. Bij plasma's met een viscositeit hoger dan 1.80 cst. ziet men geen verdere stijging van de B.S.E. (mm/uur). De gevonden B.S.E.-waarden worden voornamelijk bepaald door de haematocriet.
5. De P.V. geeft van patiënten met een hoge plasmaviscositeit de activiteit van de ziekte weer. De B.S.E. (mm/uur) is bij deze patiënten onbruikbaar.
6. Waarschijnlijk is de P.V.-bepaling ook bij ziekteprocessen met een P.V. lager dan 1.80 cst. een betere indicator voor de ziekteactiviteit.
7. Op grond van bovengenoemde conclusies is een uitgebreidere bestudering van de plasma- en serumviscositeit gerechtvaardigd.

HOOFDSTUK VI

HET VERSCHIL TUSSEN PLASMA- EN SERUMVISCOSITEIT ALS FIBRINOGEENBEPALING

1. INLEIDING

De eerste, die aantoonde dat er een correlatie bestond tussen het fibrinogeen-gehalte en het verschil in viscositeit tussen plasma en serum (= " δV ") was Lawrence (1950). In 1953 onderzocht Petersen bij een groter aantal gezonde proefpersonen en patiënten de relatie tussen " δV " en een andere methode voor de bepaling van het fibrinogeen-gehalte. De gevonden correlatie was lineair en significant positief. Verder viel het Petersen op, dat de " δV "-waarden van de sera van patiënten met een paraproteïneämie te hoog uitvielen. Hij gaf geen verklaring voor dit fenomeen. In Nederland deden Hellendoorn en Gerbrandy (1961) onderzoek op het gebied van de plasma- en serumviscositeit. Hun bevindingen waren in overeenstemming met bovengenoemde auteurs.

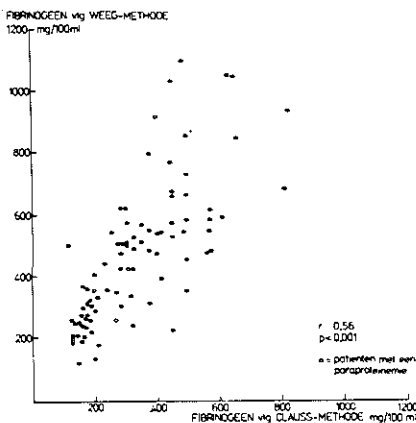
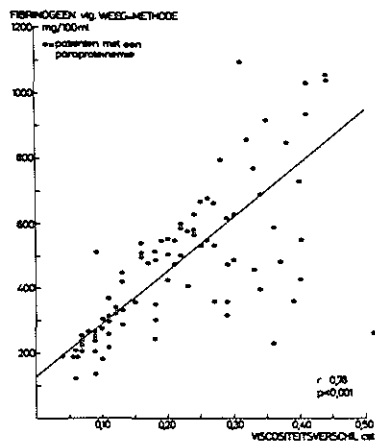
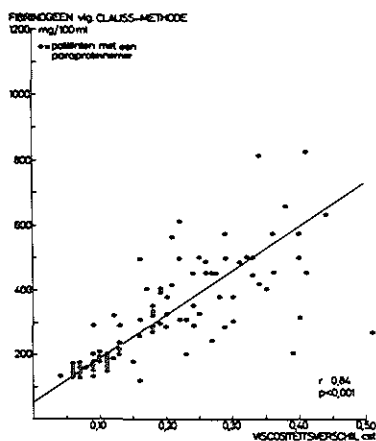
In ons onderzoek zullen wij de relatie onderzoeken tussen de " δV " en twee andere principiële verschillende methoden voor fibrinogeenbepalingen; nl. de "Weeg"- en de "Clauss"-methode. Verder zullen wij nagaan welke invloed de serumeiwitten hebben op deze bepalingen en zo trachten een verklaring te vinden voor het feit, dat de " δV "-methode onbetrouwbaar is bij patiënten met multiple myeloma.

2. DE VERGELIJKING VAN " δV " MET DE UITKOMSTEN VAN DE FIBRINOGEENBEPALINGEN VOLGENS DE "WEEG"- EN "CLAUSS"-METHODE

A. Eigen onderzoek

Dit onderzoek werd uitgevoerd bij 67 patiënten en 19 gezonde proefpersonen. Er werden alleen die mensen in opgenomen, waarbij zowel de " δV " als de beide andere methoden voor fibrinogeenbepaling werden uitgevoerd. In de verza-

metabel achterin staat aangegeven welke proefpersonen dit zijn (kolom: hoofdstuk VI-A). De gebruikte methoden voor het onderzoek werden in hoofdstuk IV beschreven. In de figuren 14, 15 en 16 wordt de relatie weergegeven tussen respectievelijk de "δV" en de "Clauss"-methode, de "δV"- en de "Weeg"-methode en tussen de "Clauss"- en de "Weeg"-methode. De patiënten met een paraproteïnemie zijn apart in de figuren aangegeven.



Figuur 14. De relatie tussen "δV" en het fibrinogeengehalte bepaald met de "Clauss"-methode met de regressielijn.

Figuur 15. De relatie tussen de "δV" en het fibrinogeengehalte bepaald met de "Weeg"-methode met de regressielijn.

Figuur 16. De relatie tussen de "Weeg"- en de "Clauss"-methode.

B. Bespreking

De " δV "-waarde vertoont zowel met het fibrinogeengehalte volgens de "Weeg"- en volgens de "Clauss"-methode bepaald een lineaire en significant positieve correlatie. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van Petersen (1953) en Hellendoorn (1961). Ook wij constateerden, dat de " δV "-waarde van een aantal patiënten met een hoog gehalte aan paraproteïnen buiten dit lineaire verband vielen. Bij vergelijking van de "Weeg"- en de "Clauss"-methode werd dit niet gezien.

Opvallend is dat de correlatiecoëfficiënt tussen " δV "- met respectievelijk de "Clauss"-methode ($r = 0.84$) en de "Weeg"-methode ($r = 0.78$) veel hoger is dan de correlatiecoëfficiënt tussen de "Clauss"- en de "Weeg"-methode ($r = 0.56$). Dit is ons inziens aan de veel grotere nauwkeurigheid van de viscositeitsbepaling toe te schrijven (zie tabel IX).

Onze bevindingen bevestigen nogmaals, dat de " δV "-waarde een maat voor het fibrinogeengehalte is en tevens, dat deze methode onbetrouwbaar is bij patiënten met een hoog paraproteïnegehalte. In de volgende paragraaf zullen wij een verklaring geven, waarom de " δV "-methode bij patiënten met een paraproteïnaemie relatief te hoog uitvalt.

3. DE INVLOED VAN DE SERUMEIWITTEN OP DE DRIE METHODEN VOOR FIBRINOGEENBEPALING

A. Inleiding

Bij de " δV "-methode gaat men er van uit, dat het bloedstolsel voornamelijk fibrine bevat. In principe komt deze overeen met al die methoden van fibrinogeenbepaling, die het fibrinogeengehalte bepalen uit het gevormde stolsel. Een voorbeeld hiervan is de "Weeg"-methode. Een belangrijke fout van deze bepalingswijze kan de insluiting van andere serumeiwitten in het stolsel zijn (Morrison 1947 en Jacobsson 1955).

Morrison (1947) concludeerde uit zijn onderzoeken, dat er altijd sprake was van insluiting van serumeiwitten in het stolsel. Deze insluiting was een selectief proces en betrof vooral groot moleculaire eiwitten, zoals de β -lipoproteïnen en gammaglobulinen. De fout van de fibrinogeenbepaling zou vooral groot zijn bij bepaalde veranderingen in de samenstelling van de serumeiwitten.

Tot een andere conclusie kwam Jacobsson (1955). Deze stelde, dat de fout veroorzaakt door insluiting van andere eiwitten in het stolsel buiten fibrinogeen, onafhankelijk was van de samenstelling van de serumeiwitten. Jacobsson vond verder, dat de ingesloten serumfractie een bepaald percentage van het stolselgewicht bedroeg.

Bovengenoemde auteurs deden hun experimenten met behulp van gezuiverd fibrinogeen. Het stollingsproces lieten zij verlopen in verschillende media b.v. in fysiologisch zout, of in serum van een gezonde proefpersoon of van een

patiënt. In ons eigen onderzoek bepaalden wij het fibrinogeengehalte met de drie methoden voor fibrinogeenbepaling. Deze waarnemingen zullen wij vergelijken met het gelijktijdig bepaalde totaal eiwit, het IgG-, het IgA-, het IgM-gehalte en de serumviscositeit.

B. Eigen onderzoek

Dit deel van het onderzoek werd uitgevoerd bij 40 patiënten. In de verzameltabel achterin (kolom: hoofdstuk VI-B) staat aangegeven, welke patiënten in deze studie zijn opgenomen. Het is een heterogene groep patiënten, die als voornaamste overeenkomst hebben, dat zij lijden aan ziekten waarvan men aanneemt, dat zij met weefselverval gepaard gaan.

Wij onderzochten of er verband bestaat tussen het fibrinogeengehalte, bepaald met de door ons gebruikte methoden (zie hoofdstuk IV), en een aantal parameters, waarvan men op grond van het ziekteproces geen verband met het fibrinogeengehalte verwacht. Deze parameters zijn respectievelijk het totaal eiwitgehalte, de S.V., het IgG-, het IgA- en het IgM-gehalte.

In tabel XIII geven wij de berekende correlatiecoëfficiënt met significantie weer van respectievelijk de "δV"-methode en het fibrinogeengehalte volgens de "Claus"- en de "Weeg"-methode met de overige bepalingen. Wij zien, dat het via

Tabel XIII. De correlatie tussen het fibrinogeengehalte bepaald met respectievelijk de "δV", de "Weeg"- en de "Claus"-methode en de serumeiwitten of de door de serumeiwitten mede bepaalde grootheden bij 40 patiënten.

Fibrinogeen-bepaling	Serumeiwitten of S.V.	r	p
"δV"	Totaal eiwit	0.28	n.s.
	IgG	0.33	< 0.05
	IgA	0.28	n.s.
	IgM	0.20	n.s.
	S.V.	0.60	< 0.001
"Weeg"-methode	Totaal eiwit	0.40	< 0.01
	IgG	0.48	< 0.01
	IgA	0.17	n.s.
	IgM	0.32	< 0.05
	S.V.	0.08	n.s.
"Claus"-methode	Totaal eiwit	0.01	n.s.
	IgG	0.04	n.s.
	IgA	0.04	n.s.
	IgM	0.29	n.s.
	S.V.	0.18	n.s.

de "Clausz"-methode bepaalde fibrinogeen met geen der andere bepalingen een significante correlatie heeft. De "Weeg"-methode heeft een significant positieve correlatie met het totaal eiwit, het IgG- en het IgM-gehalte; de " δV "-methode met het IgG-gehalte en de serumviscositeit.

Daar het IgG-gehalte zowel met de " δV "- als de "Weeg"-methode een significant positieve correlatie heeft, onderzochten wij ook de relatie tussen het IgG-gehalte en respectievelijk de S.V. en het totaal eiwitgehalte; tevens de relatie tussen het IgM- en het totaal eiwitgehalte (zie tabel XIV).

Tabel XIV. De correlatie tussen het IgG-gehalte en respectievelijk de serumviscositeit en het totaal eiwitgehalte; en tussen het IgM- en het totaal eiwitgehalte.

Immunoglobuline	Totaal eiwit of S.V.	r	p
IgG	T.E.	0.43	< 0.01
IgG	S.V.	0.67	< 0.001
IgM	T.E.	0.28	n.s.

C. Bespreking

In ons onderzoek dient de "Clausz"-methode als contrôlemethode. Met deze methode bepaalt men het fibrinogeengehalte via de stollingstijd; deze is niet afhankelijk van de samenstelling van de serumeiwitten, wel van andere factoren zoals de temperatuur, de pH en de aanwezigheid van een antithrombine. De "Clausz"-methode vertoonde geen relatie met de S.V., het totaal eiwit-, IgG-, IgA- en IgM-gehalte.

De uitkomsten van de " δV "- en de "Weeg"-methode worden wel mede bepaald door de samenstelling van de serumeiwitten. De " δV "-methode is afhankelijk van de serumviscositeit en het IgG-gehalte; de "Weeg"-methode van het totaal eiwit-, het IgG- en het IgM-gehalte. Dat het IgG een bepalende factor is voor zowel de " δV "- als de "Weeg"-methode is te begrijpen uit het feit, dat dit eiwit zowel met de serumviscositeit als het totaal eiwitgehalte een significant positieve correlatie heeft in onze patiëntengroep. De relatie van het IgM tot de "Weeg"-methode berust waarschijnlijk op toeval; wij kunnen dit althans niet verklaren, daar dit eiwit kwantitatief weinig bijdraagt tot het totaal eiwitgehalte. Onze bevindingen zijn dus in strijd met de conclusie van Jacobsson (1955), dat fibrinogeenbepalingen gebaseerd op een analyse van het fibrinestolsel, niet afhankelijk zijn van de samenstelling van de serumeiwitten. De fenomenen, dat de " δV "-methode door de S.V. en de "Weeg"-methode door het totaal eiwitgehalte worden beïnvloed zijn wel in overeenstemming met die bevindingen van Jacobsson (1955), dat een vaste fractie van het stolsel uit serumeiwitten bestaat. Zo kan men verklaren, dat het fibrinogeengehalte van de "Weeg"-methode hoger is, naar-

mate het ingesloten serumdeel een hoger totaal eiwitgehalte heeft. Hetzelfde geldt wat betreft de "δV"-methode voor de serumviscositeit.

De afhankelijkheid van de "δV"-methode van de viscositeit van het serum verklaart ons inziens het feit, dat deze methode onbruikbaar is bij patiënten met multiple myeloma, althans wanneer zij een hoge serumviscositeit hebben. In de volgende paragraaf zullen wij de "δV"-methode toetsen bij een drietal patiënten met een paraproteïnaemie. Tevens zullen wij trachten een indruk te krijgen over welk traject van de serumviscositeit de "δV"-methode is te gebruiken.

4. FIBRINOGEENBEPALINGEN VOLGENS DE "δV"-METHODE BIJ PATIËNTEN MET EEN PARAPROTEÏNAEMIE

A. Eigen onderzoek

Bij drie patiënten met een paraproteïnaemie bepaalden wij op verschillende tijdstippen de "δV"-waarde, de S.V. en het fibrinogeengehalte volgens de "Clauss"-methode. Met behulp van de in figuur 14 gegeven regressielijn rekenden wij de "δV"-waarden om op de "Clauss"-fibrinogeenwaarden.

De gegevens van deze patiënten staan in tabel XV. Vergelijken wij nu de op "Clauss"-berekende "δV"-waarden met de overeenkomstige fibrinogeenwaarden volgens "Clauss", dan zien wij, dat vooral bij een hoge serumviscositeit deze twee

Tabel XV. De "δV"-bepalingen bij drie patiënten met een paraproteïnaemie in vergelijking met het fibrinogeengehalte volgens de "Clauss"-methode.

Patiënt	Paraproteïne	Serumviscositeit (cst)	"δV" (cst)	"δV"-waarde * "Clauss" (mg/100 ml)	Fibrinogeen vlg. "Clauss" (mg/100 ml)
A. 1	IgG	1.74	0.26	400	315
2		1.80	0.36	510	400
B. 3	IgG	1.70	0.31	460	285
4		2.12	0.42	610	270
5		1.56	0.17	275	210
C. 6	IgM	3.18	0.40	575	312
7		2.66	0.24	370	230
8		2.36	0.18	290	215
9		2.32	0.17	280	273
10		2.15	0.11	200	237
11		2.25	0.23	355	245
12		2.40	0.14	240	243

* "δV"-waarden herleid tot de "Clauss"-fibrinogeenwaarden.

waarden sterk kunnen verschillen. Het gemiddelde van deze op "Clauss" fibrinogeen omgerekende " δV "-waarden is 38% hoger dan het gemiddelde van het met de "Clauss"-methode bepaalde fibrinogeen gehalte.

Om een indruk te krijgen over welk gebied van de serumviscositeit men de " δV "-methode kan gebruiken als fibrinogeenbepaling, verdeelden wij onze overige patiënten in 5 groepen naar hun serumviscositeit.

In tabel XVI tonen wij in procenten het verschil tussen het gemiddelde van de op "Clauss" omgerekende " δV "-waarden en het gemiddelde van de fibrinogeenwaarden bepaald met de "Clauss"-methode voor onze groepen. Hierbij werd de "Clauss"-waarde op 100 gesteld.

Tabel XVI. Weergave van het verschil in procenten tussen het gemiddelde van de op "Clauss" omgerekende " δV "-waarden en het gemiddelde van het volgens Clauss bepaalde fibrinogeen gehalte.

Viscositeits- klasse in cst.	n*	% verschil
I 1.00 - 1.10	12	- 5%
II 1.10 - 1.20	27	- 10%
III 1.20 - 1.30	25	+ 2%
IV 1.30 - 1.40	17	+ 12%
V 1.40 - 1.50	8	+ 9%
VI > 1.60	12	+ 38%

* = Het aantal onderzochte patiënten.

B. Bespreking

Het is duidelijk, dat de fibrinogeenbepaling volgens de " δV "-methode vooral bij patiënten met een hoge serumviscositeit gestoord kan zijn. Bekijkt men de gemiddelde percentuele afwijking van de " δV "-methode over het traject van de serumviscositeit van 1.00 tot 1.60 cst. dan is de afwijking ten opzichte van de "Clauss"-methode te accepteren (tabel XVI). In dit viscositeitsgebied vallen de sera van de meeste ziekteprocessen, zoals b.v. chronische rheumatoïde arthritis en chronische infectieziekten (zie verzameltabel achterin). Alleen bij patiënten met multiple myeloma of de ziekte van Waldenström kan men sera vinden met een viscositeit hoger dan 1.60 cst. Vandaar dat men bij deze patiënten de " δV "-methode niet kan vertrouwen. Wel kan men deze gebruiken bij patiënten met een paraproteïnaemie en een serumviscositeit lager dan 1.60 cst.

Concluderend mag men zeggen, dat de " δV "-methode bij het merendeel van onze patiënten is te gebruiken als fibrinogeenbepaling. De interpretatie is onbetrouwbaar bij patiënten met een paraproteïnaemie, althans wanneer de serumviscositeit hoger is dan 1.60 cst.

5. CONCLUSIES

1. De " δV "-methode vertoont een significant positieve correlatie met het volgens de "Weeg"- en de "Clauss"-methode bepaalde fibrinogeengehalte.

2. Het fibrinogeengehalte bepaald met de "Weeg"- en de " δV "-methode worden beide beïnvloed door de samenstelling van de serumeiwitten. De "Weeg"-methode zal relatief hoger uitvallen bij een hoger totaal eiwitgehalte, de " δV "-methode bij een hogere serumviscositeit. De "Clauss"-methode, die het fibrinogeengehalte principieel niet bepaalt via een analyse van het fibrinestolsel, vertoonde geen relatie met de samenstelling van de serumeiwitten.

3. Op grond van bovenstaande conclusie mag men stellen, dat iedere methode van fibrinogeenbepaling, die op een analyse van het gevormde fibrinestolsel is gebaseerd, door de samenstelling van de serumeiwitten beïnvloed zal worden.

4. De " δV "-methode is onbetrouwbaar als fibrinogeenbepaling bij patiënten met een serumviscositeit hoger dan 1.60 cst. Dit zijn meestal patiënten met een hoog gehalte aan paraproteïnen. Bij de andere patiënten is de " δV "-methode als fibrinogeenbepaling te gebruiken.

HOOFDSTUK VII

DE RELATIE TUSSEN HET VERSCHIL VAN PLASMA- EN SERUMVISCOSITEIT (δV) MET ANDERE EIWITTEN DIE BETROKKEN ZIJN BIJ DE "ACUTE PHASE REACTION"

1. INLEIDING

Bij weefselverval ontstaan veranderingen in het gehalte van een groot aantal door de lever gesynthetiseerde plasma-eiwitten. Wij zien enerzijds een daling van het gehalte van albumine en van het transferrine, anderzijds een stijging van het gehalte van een heterogene groep eiwitten. Voorbeelden hiervan zijn het α_1 -zure glycoproteïne, het C-reactieve proteïne, het α_1 -antitrypsine, het haptoglobine en het fibrinogeen. Deze door de lever gemaakte plasma-eiwitten, die op weefselverval reageren met een stijging van hun gehalte in het plasma noemt men de "acute phase reactants".

Het vinden van een verhoogd gehalte van één der "acute phase reactants" heeft geen differentieel diagnostische betekenis. Zij kan het gevolg zijn van iedere oorzaak van weefselverval (Owen 1967, Nijman 1959, Hedlund 1961). Wat dit betreft hebben zij dezelfde diagnostische betekenis als de bloedbezinking en de plasmaviscositeit.

In de kliniek wordt de bepaling van een "acute phase reactant" gebruikt als maat voor de activiteit van een ziekteproces. Het zou volgens sommigen een betere indicator zijn dan de B.S.E. Zo vond Shetlar (1956), dat het C-reactieve proteïne een betere maatstaf voor de ziekte activiteit was dan de B.S.E. bij een groep patiënten met chronische rheumatoïde arthritis.

Een aantal onderzoekers vond een positieve correlatie tussen de verschillende "acute phase reactants". Dit werd aangetoond voor het C-reactieve proteïne met respectievelijk het haptoglobine (Schuhmacher 1962), met het ceruloplasmine (Rice 1960 en 1961) en met het α_1 -zure glycoproteïne (Schuhmacher 1962). Voor het haptoglobine met respectievelijk het orosomucoid, met het fibrinogeen door Nijman (1959) en met het α_1 -antitrypsine door Clarke (1970b).

Vrij recent toonde Crockson (1966) aan, dat het C-reactieve proteïne, het ceruloplasmine en het fibrinogeen bij onderlinge vergelijking een positieve correlatie vertoonden.

In 1947 beschreef Seibert een negatieve correlatie tussen het albumine en het serum polysaccharidgehalte. Ropes (1954) vond een negatief verband tussen het albumine- en het fibrinogeenhalte. Er is weinig bekend over de relatie tussen het albumine en het transferrine bij ziekten met weefselverval. Wel vond Jarnum (1961) bij een onderzoek met radio-actief gemerkt albumine en transferrine bij patiënten met een acute infectieziekte een positieve correlatie tussen de toegenomen katabolische fracties van deze eiwitten. Hij concludeerde uit zijn onderzoekingen, dat de daling van het albumine- en het transferrinegehalte veroorzaakt werd door eenzelfde mechanisme.

Al deze publicaties suggereren een samenhang tussen enerzijds de stijging van de "acute phase reactants" en anderzijds de daling van het albumine- en het transferrinegehalte. Het doel van ons onderzoek is om na te gaan in hoeverre onze "δV"-methode als fibrinogeenbepaling correleert met een aantal andere "acute phase reactants". Verder zullen wij bij een groter aantal plasma-eiwitten de relatie onderzoeken, die deze eiwitten t.o.v. elkaar hebben bij ziekteprocessen met weefselverval.

2. DE RELATIE TUSSEN "δV" EN DE ANDERE "ACUTE PHASE REACTANTS"

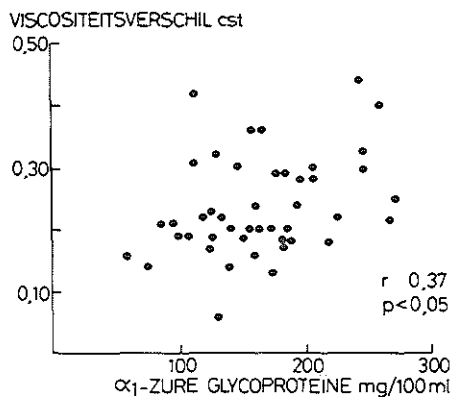
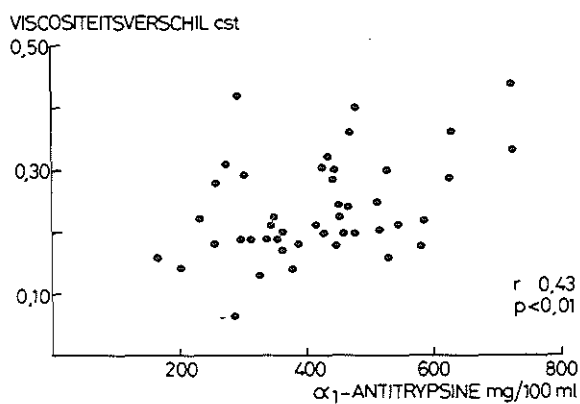
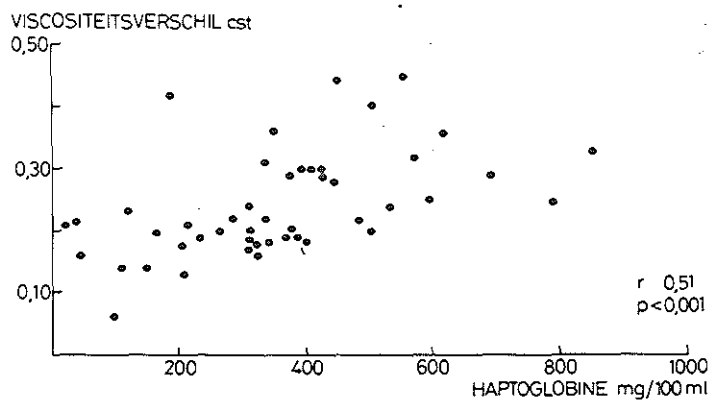
A. Eigen onderzoek

Bij 41 patiënten bepaalden wij de "δV"-waarde, het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine- en het haptoglobinegehalte. Voor de ziekteoorzaken van deze patiënten verwijzen wij U naar de verzameltabel achterin. Deze 41 patiënten leden allen aan een ziekteproces met weefselverval. In deze studie werden geen patiënten met een verhoogd paraproteïnegehalte opgenomen, omdat bij deze patiënten de "δV"-methode onbetrouwbaar is. Voor de proefopstelling en de gebruikte methoden verwijzen wij U naar hoofdstuk IV.

B. De relatie tussen "δV" met respectievelijk het α_1 -zure glycoproteïne-, het α_1 -antitrypsine- en het haptoglobinegehalte

In figuur 17 laten wij het verband zien tussen "δV" en het haptoglobinegehalte (r 0.51, $p < 0.001$), tussen "δV" en het α_1 -antitrypsinegehalte (r 0.43, $p < 0.01$) en tussen "δV" en het α_1 -zure glycoproteïnegehalte (r 0.37, $p < 0.05$).

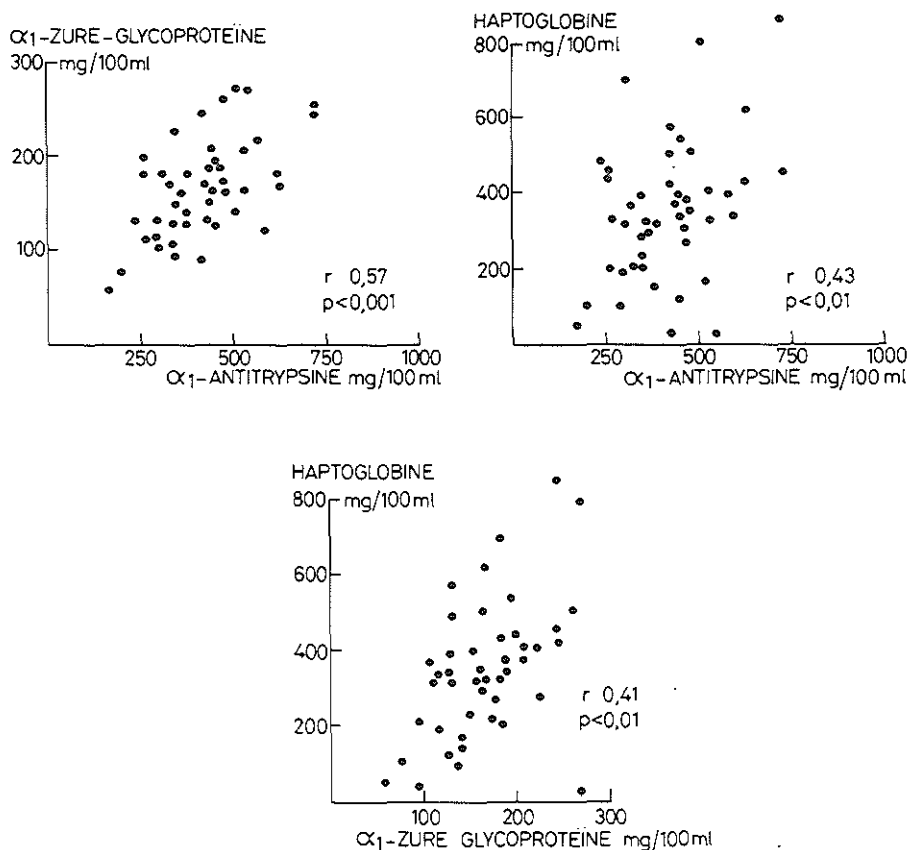
De beste overeenkomst werd tussen "δV" en het haptoglobinegehalte gevonden.



Figuur 17. Het verband tussen "δV" en respectievelijk het haptoglobine-, het α_1 -antitrypsine en het α_1 -zure glycoproteïne-gehalte bij 41 patiënten met weefselverval.

C. De relatie tussen het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine en het haptoglobine onderling

De relatie, die de andere "acute phase reactants" t.o.v. elkaar hebben tonen wij in figuur 18. De hoogste correlatiecoëfficiënt werd gevonden tussen het α_1 -zure glycoproteïne- en het α_1 -antitrypsinegehalte (r 0.58, $p < 0.001$).



Figuur 18. Het onderlinge verband tussen het α_1 -zure glycoproteïne-, het α_1 -antitrypsine- en het haptoglobinegehalte bij 41 patiënten met weefselverval.

D. Bespreking

Uit dit onderzoek blijkt in overeenstemming met vroegere onderzoeken bij patiënten met weefselverval, dat de "acute phase reactants" onderling een significant positieve correlatie vertonen. Dit geeft eens te meer aan, dat zij alle indicatoren zijn voor weefselverval en tijdens een ziekteproces in ongeveer de-

zelfde mate stijgen.

Voor ons eigen onderzoek is vooral van belang de positieve correlatie, die "δV" met de andere "acute phase reactants" heeft. Bij de gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. heeft men in hun verschil een indicator voor weefselverval.

3. DE RELATIE TUSSEN DE "ACUTE PHASE REACTANTS" EN RESPECTIEVELIJK HET ALBUMINE- EN HET TRANSFERRINEGEHALTE

A. Eigen onderzoek

In tabel XVII laten wij zien in welke relatie het albumine en het transferrine staan tot achtereenvolgens het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine, het haptoglobine en de "δV"-waarde. De significant negatieve correlaties worden in de figuren 19 en 20 weergegeven.

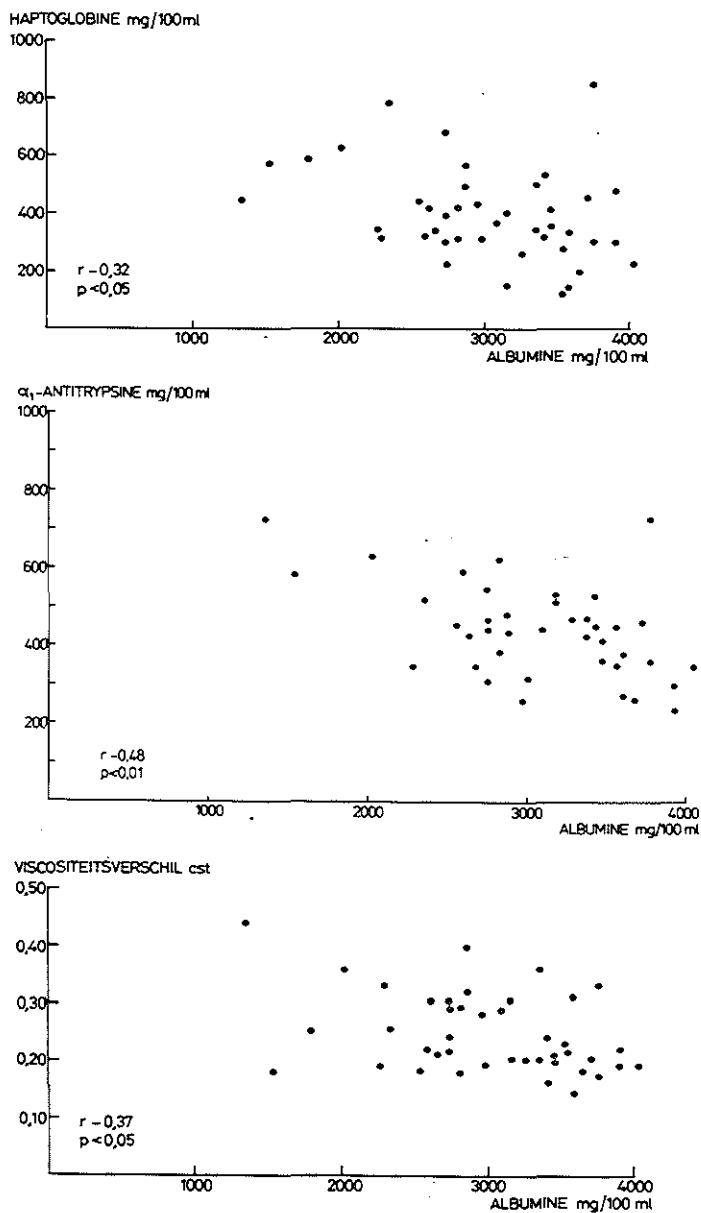
Tabel XVII. De relatie van het albumine en het transferrine met respectievelijk het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine en het haptoglobine bij 41 patiënten met een met weefselverval gepaard gaande ziekte.

albumine of transferrine	"acute phase reactant"	r	p
albumine	α_1 -zure glycoproteïne	- 0.15	n.s.
	α_1 -antitrypsine	- 0.48	< 0.01
	haptoglobine	- 0.32	< 0.05
	"δV"	- 0.37	< 0.05
transferrine	α_1 -zure glycoproteïne	- 0.55	< 0.001
	α_1 -antitrypsine	- 0.49	< 0.001
	haptoglobine	- 0.21	n.s.
	"δV"	- 0.20	n.s.

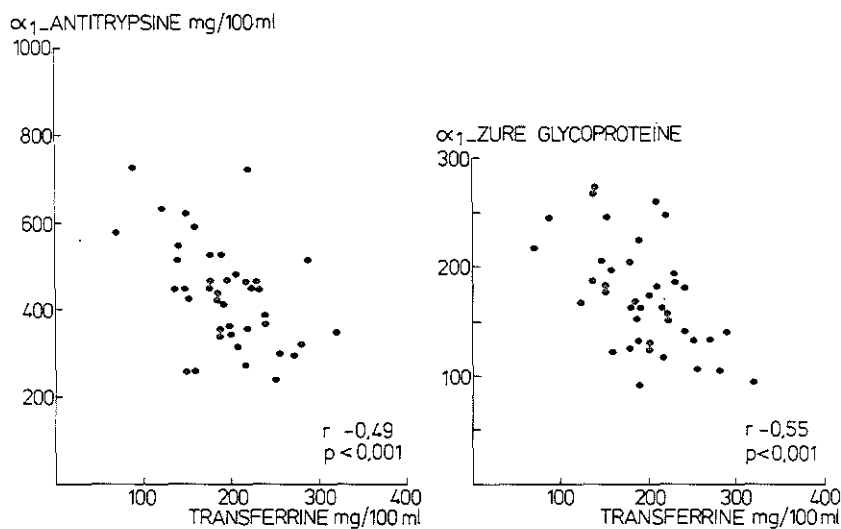
Tenslotte tonen wij in figuur 21 de significant positieve correlatie tussen het albumine en het transferrine. Dit wijst op een samenhang tussen de mate van daling van het albumine- en van het transferrinegehalte.

B. Bespreking

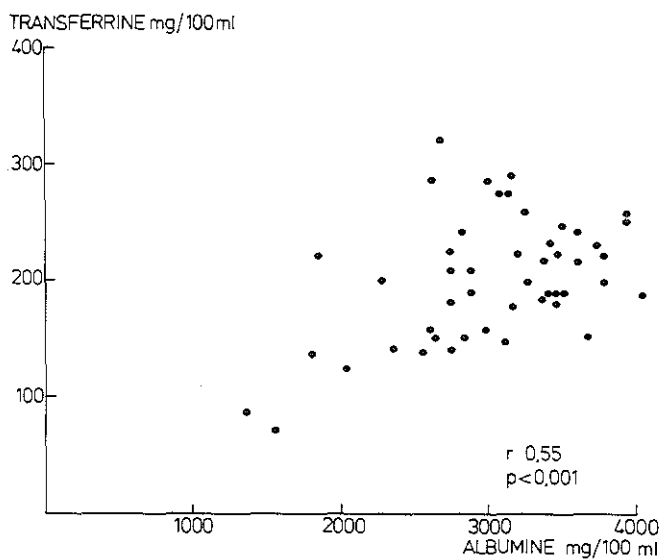
De daling van het albumine- en het transferrinegehalte enerzijds en de stijging van de "acute phase reactants" anderzijds hebben een minder overtuigende samenhang dan de stijging van de "acute phase reactants" bij onderlinge vergelijking. Toch suggereren onze bevindingen een samenhang tussen de verschillende processen. In deze richting gaat ook de significant positieve correlatie tussen het albumine- en het transferrinegehalte.



Figuur 19. De relatie van het albuminegehalte met respectievelijk het haptoglobinegehalte, het α_1 -antitrypsinegehalte en de "sV"-waarde bij 41 patiënten met weefselverval.



Figuur 20. De relatie tussen het transferrinegehalte en respectievelijk het α_1 -zure glycoproteïne- en het α_1 -antitrypsinegehalte bij 41 patiënten met weefselverval.



Figuur 21. De relatie tussen het albumine- en het transferrinegehalte bij 41 patiënten met weefselverval.

4. NABESCHOUWING

Het is vreemd, dat er na ruim vijftig jaar onderzoek nog zo weinig bekend is over het wezen van de veranderingen in het eiwitspectrum bij weefselverval. Dit is voor een deel terug te brengen op het ontbreken van kennis omtrent de regulatiemechanismen en de functies van de door de lever gesynthetiseerde eiwitten bij gezonde personen. Slechts van een klein aantal eiwitten zoals het fibrinogeen, het haptoglobine, het transferrine en het ceruloplasmine is gedeeltelijk bekend, welke taak zij hebben.

Zo wij al vrijwel niets weten omtrent de normale homeostase van de plasma-eiwitten, bestaat er ook geen kennis omtrent weefselverval of de "acute phase reaction" van de lever. De term weefselverval past men toe op een aantal ziekten met een verschillende oorzaak; hierbij postuleert men eigenlijk dat er op cellulair niveau bij tumoren, bij infectieziekten en bij bindweefselziekten identieke processen plaats vinden. Een postulaat dat nooit goed onderzocht en waarschijnlijk niet juist is. Het is nog een open vraag of de reactie van de lever op de mogelijk verschillende soorten weefselverval, steeds dezelfde is.

De invoering van het begrip "acute phase reactant" heeft wel een praktisch nut, maar heeft in wezen het bovengestelde kernprobleem van de reactie van de lever op de verschillende oorzaken voor weefselverval verdoezeld. Na de invoering van het bovengenoemde begrip is men alle processen, waarbij een stijging van het gehalte van de "acute phase reactants" aantoonbaar is, gaan rekenen tot een ziekte met weefselverval (een *petitio principii*). Zo zijn tegenwoordig een verhoogde B.S.E., of een verhoogd C-reactief proteïnegehalte criteria voor het bestaan van weefselverval. De invoering van de term "acute phase" heeft ertoe geleid, dat sommigen de prikkel weefselverval zijn gaan beschouwen als een uniforme prikkel, terwijl in het geheel niet zeker is, dat weefselverval bij de diverse ziekten een identiek proces is.

In het algemeen komen de meeste onderzoekers tot de conclusie, zonder dat het definitieve bewijs gegeven wordt, dat er verschillen bestaan tussen de diverse ziekteprocessen. Zo beschreven Clarke en medewerkers in 1971, dat er verschillen in de veranderingen van het eiwitspectrum bestonden bij patiënten met reumatoïde arthritis (1970a), met de ziekte van Hodgkin (niet gepubliceerd), met tuberculose en sarcoïdosis (1970b) en na een operatie (1971). De gevonden verschillen waren echter niet significant.

Het is duidelijk, dat er omtrent de genese van de veranderingen in het eiwitspectrum bij weefselverval niets bekend is. Het enige wat vast staat is, dat diverse ziekten eenzelfde soort verandering te zien geven, nl. een daling van het albumine- en het transferrinegehalte en een stijging van het gehalte van α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine, het haptoglobine en het fibrinogeen. Dat deze veranderingen inderdaad optreden is te zien bij de longitudinale studies van patiënten met een hartinfarct (Bachmann 1968 en eigen niet gepubliceerd onder-

zoek) en na een operatie (Crockson 1966, Werner 1967 en Clarke 1971). Verder wordt er vaak een zwak positieve correlatie gevonden tussen de diverse "acute phase reactants", die meestal niet significant is.

Ook wij vonden bij een groep patiënten met uiteenlopende ziekteoorzaken deze zwak significant positieve correlaties. Verder toonden wij enige samenhang aan tussen de daling van respectievelijk het albumine- en het transferrinegehalte en de stijging van het gehalte van een aantal "acute phase reactants". Op grond van ons onderzoek kan men alléén stellen, dat het gehalte van de verschillende plasma-eiwitten, die betrokken zijn bij de reactie van de lever op weefselverval ongeveer in dezelfde mate veranderen.

Van praktische betekenis is verder het vinden van een significant positieve correlatie van de " δV "-waarde met de andere "acute phase reactants", zodat wij de " δV "-waarde bij de gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. kunnen gebruiken als een "acute phase reactant".

5. CONCLUSIES

1. Er is bij patiënten met weefselverval een samenhang tussen de mate van stijging van de "acute phase reactants".
2. De " δV "-waarde gedraagt zich als een "acute phase reactant" en is als zodanig in de praktijk te gebruiken.
3. Er is bij patiënten met weefselverval een samenhang tussen de mate van daling van het albumine- en van het transferrinegehalte. Dit uit zich door het vinden van een significant positieve correlatie tussen deze twee eiwitten.
4. Een samenhang tussen de mate van daling van het albumine- respectievelijk het transferrinegehalte en de mate van stijging van de verschillende "acute phase reactants" is aanwezig.
5. Ons onderzoek suggereert dat de gehalten van de plasma-eiwitten, die betrokken zijn bij de reactie van de lever op weefselverval, ongeveer in dezelfde mate veranderen.

HOOFDSTUK VIII

DE SERUMVISCOSITEIT EN DE GEDEFIBRINEERDE BLOEDBEZINKING

1. INLEIDING

De gedefibrineerde B.S.E. wordt in de kliniek gebruikt als een snelle bepaling om een indruk te krijgen van het globulinengehalte. Deze methode werd in 1932 door Bendien en Snapper geïntroduceerd. Een gedefibrineerde B.S.E. hoger dan 10 mm/uur zou volgens hen op een verhoogd globulinen- en dan speciaal gammaglobulinengehalte wijzen. In 1953 vond Groen een significant positieve correlatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. met respectievelijk het totaal globulinen- en euglobulinengehalte*. Deze laatste eiwitfractie bestaat voor een groot deel uit IgM en IgG. Ook hij beschouwde de gedefibrineerde B.S.E. als een bruikbare "screening"-methode op het bestaan van een verhoogd globulinengehalte.

Op de mogelijkheid om de serumviscositeit te gebruiken als een maat voor het globulinengehalte wezen o.a. Lawrence (1950) en Hellendoorn (1961). Hoge waarden van de serumviscositeit zijn beschreven bij de ziekte van Waldenström (Waldenström 1944 en 1952) en bij chronische rheumatoïde arthritis door Shearn (1963).

Bij het gebruik van de gedefibrineerde B.S.E. in onze kliniek zijn wij herhaaldelijk teleurgesteld over de informatie die deze methode geeft. Vooral waarden van 20 à 30 mm/uur vonden wij moeilijk te interpreteren met betrekking tot hun gammaglobulinengehalte. Wel vonden wij, dat een gedefibrineerde B.S.E. hoger dan 50 mm meestal veroorzaakt werd door een ziekte gepaard gaande met een paraproteïnaemie.

Deze ongevoeligheid van de gedefibrineerde B.S.E. als "screening"-methode op het bestaan van een verhoogd gammaglobulinengehalte, was voor ons re-

* De euglobulinenfractie zijn de in water onoplosbare plasma-eiwitten. Deze fractie verkrijgt men door plasma tegen water te dialyseren. Hij bestaat voor een groot deel uit IgG en IgM (Schulze en Heremans 1966).

den om bij een groep patiënten de gedefibrineerde B.S.E. te vergelijken met de serumviscositeit. Wij zullen van beide methoden de relatie met het gehalte van een aantal serumeiwitten onderzoeken. Tenslotte zullen wij de onderlinge relatie nagaan tussen de gedef. B.S.E., de S.V., het γ -globulinen-, het IgG-, het IgA- en het IgM-gehalte.

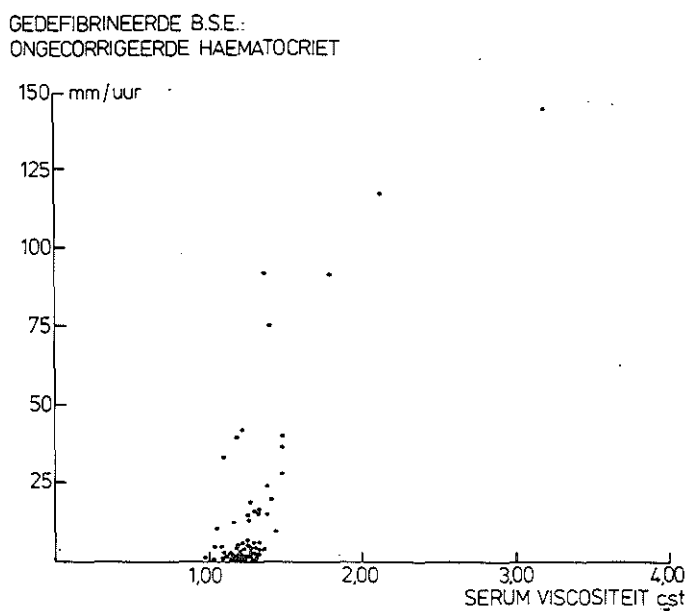
2. DE RELATIE TUSSEN DE SERUMVISCOSITEIT EN GEDEFIBRINEERDE B.S.E.

A. De serumviscositeit uitgezet tegen de gedefibrineerde B.S.E.

Bij 58 patiënten onderzochten wij de relatie tussen de gedef. B.S.E. en de S.V. In de verzameltabel achterin staat aangegeven welke patiënten werden onderzocht (kolom: hoofdstuk VIII-A). De gebruikte methoden werden in hoofdstuk IV beschreven.

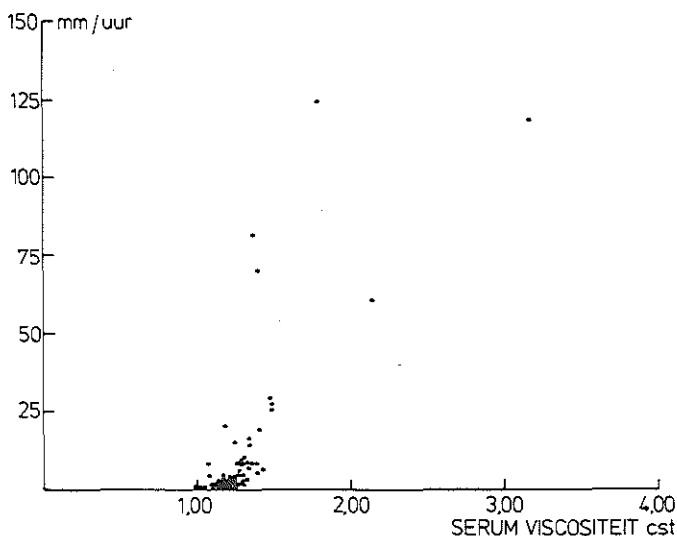
De relatie tussen de S.V. met respectievelijk de gedef. B.S.E. en de gecorrigeerde gedef. B.S.E. tonen wij in de figuren 22 en 23.

Wij zien in beide figuren, dat er geen rechtlijnig verband is. De curve valt uiteen in drie delen en is ongeveer S-vormig. In het viscositeitstraject van 0 tot 1.30 cst. is geen duidelijke stijging van de gedefibrineerde B.S.E. te zien. De meeste waarden in dit gebied zijn lager dan 10 mm/uur (figuur 22). Tussen de



Figuur 22. De relatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. en de serumviscositeit.

GEDEFIBRINEERDE B.S.E.
GECORRIGEEERDE HAEMATOCRIET/40%



Figuur 23. De relatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. (met een op 40% gecorrigeerde haematocriet) en de serumviscositeit.

serumviscositeitswaarden van 1.30 tot 1.80 cst. is de gedefibrineerde B.S.E. in het algemeen hoger dan 10 mm/uur. Tenslotte zien wij, dat boven een S.V. van ± 2.00 cst. de gedefibrineerde B.S.E. niet verder stijgt, en de curve evenals bij de P.V. en de B.S.E. neigt tot een horizontaal verloop.

De vorm van de curve, die het verband tussen de gedefibrineerde B.S.E. en serumviscositeit weergeeft, verandert niet principieel, wanneer men alle monsters corrigeert op een haematocriet van 40%. Wel ziet men de spreiding der waarden minder groot worden.

B. De invloed van de haematocriet

Bekijkt men in de verzameltabel achterin naast elkaar de gedefibrineerde B.S.E. en de op 40% haematocriet gecorrigeerde gedef. B.S.E., dan zien wij, dat de laatste waarden i.h.a. aanzienlijk lager liggen. Deze verlaging is meer constant en uitgesproken dan die van de B.S.E. na correctie, waar circa 50% na correctie van de haematocriet hoger is dan de direct gemeten B.S.E. Dit verschil in bevindingen tussen de B.S.E. en de gedef. B.S.E. is te verklaren uit het feit, dat wij bij correctie van de B.S.E. (zie hoofdstuk IV) twee verrichtingen uitvoeren met een tegengesteld effect. Het corrigeren van de haematocriet tot één waarde komt bij het grootste deel van de patiënten neer op een verhoging van de haematocrietwaarde, resulterend in een verlaging van de B.S.E. De gecorrigeerde B.S.E. wordt

echter uitgevoerd met bloed waarin zich heparine en citraat bevinden. Dit geeft in vergelijking met citraat alleen een hogere B.S.E. (Groen 1953). Afhankelijk van welk effect overheerst zal de B.S.E. na correctie hoger of lager zijn.

C. Bespreking

Bij de vergelijking van de P.V. en de B.S.E. ziet men, dat er tot een plasma-viscositeit van 1.80 cst. (zie hoofdstuk V) een significant positieve correlatie bestaat. Met andere woorden, de factoren die de toename van de geldrolvorming en de verhoging van de P.V. bewerkstelligen zijn dezelfde. Bij het plasma wordt dit toegeschreven aan het fibrinogeen. Van dit eiwit is bekend, dat het een belangrijke factor is voor de geldrolvorming en een belangrijke bijdrage aan de P.V. levert.

Uit ons onderzoek naar de relatie tussen de S.V. en de gedef. B.S.E. blijkt, dat er tussen deze twee bepalingen geen rechtlijnig verband bestaat. De curve is het beste als een S-vormige te beschrijven. De conclusie uit het ontbreken van een rechtlijnig verband is, dat veranderingen in de samenstelling van de serum-eiwitten niet in dezelfde mate de toename van de geldrolvorming en de verhoging van de serumviscositeit beïnvloeden.

Verder maakte dit onderzoek ons duidelijk, waarom verhoogde gedefibrineerde B.S.E.'s in de orde van grootte van 20 à 30 mm/uur moeilijk te interpreteren zijn. Vele van deze verhogingen zullen het gevolg zijn van een anaemie.

Bij een bespreking van de invloed, die de haematocriet heeft op de gedef. B.S.E. is het van belang te wijzen op een technische fout bij het defibrineren van bloed, die een artificieel lage haematocriet kan veroorzaken. Het is nl. belangrijk om direct na het defibrineren het bloed van het fibrinestolsel af te gieten. Wij zagen reeds na een interval van 5 minuten, dat er een aanzienlijk aantal van de erythrocyten in het stolsel werden opgenomen (zie hoofdstuk IV).

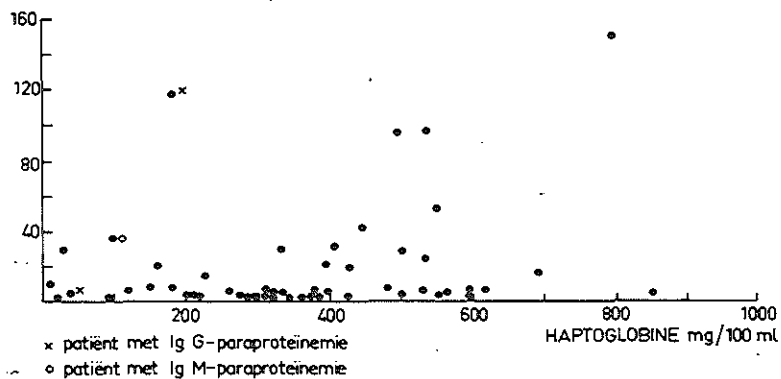
3. DE RELATIE TUSSEN DE GEDEFIBRINEERDE B.S.E. EN EEN AANTAL SERUMEIWITTEN

A. Eigen onderzoek

De relatie, die de gedef. B.S.E. heeft met een aantal serumeiwitten bestudeerden wij bij 51 patiënten (zie verzameltabel achterin: kolom VIII-B). Het grootste deel van deze patiënten had een ziekte, die gepaard ging met weefselverval. De relatie werd nagegaan met het gehalte van de volgende eiwitten; het albumine, het transferrine, het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine, het haptoglobine, het IgG, het IgA en het IgM. Met géén van deze eiwitten vertoonde de gedef. B.S.E. enig verband.

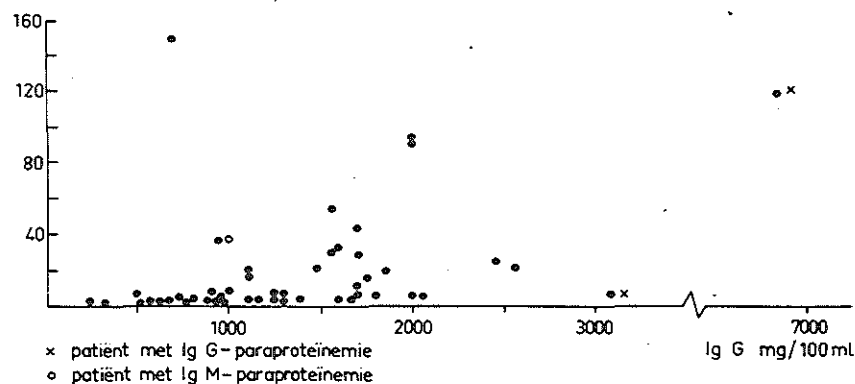
Gezien het gebruik van de gedef. B.S.E. in de kliniek als een snelle methode voor het aantonen van een verhoogd globulinen- respectievelijk gammaglobulinengehalte laten wij in de figuren 24, 25 en 26 de relatie zien tussen de gedef. B.S.E. met het haptoglobine-, het IgG- en het IgM-gehalte.

GEDEFIBRINEERDE B.S.E. mm/uur



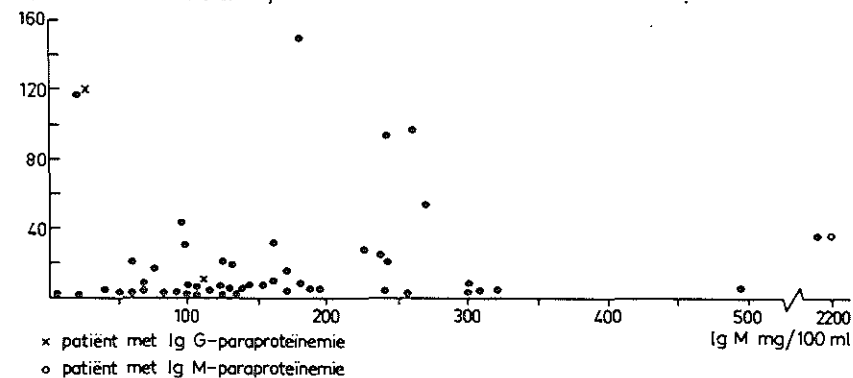
Figuur 24. De relatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. en het haptoglobinegehalte.

GEDEFIBRINEERDE B.S.E. mm/uur



Figuur 25. De relatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. en het IgG-gehalte.

GEDEFIBRINEERDE B.S.E. mm/uur



Figuur 26. De relatie tussen de gedefibrineerde B.S.E. en het IgM-gehalte.

Opvallend was de bevinding, dat er bij 4 van onze patiënten, zonder dat er sprake was van een paraproteïnaemie, een gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur werd gevonden. Het waren twee patiënten met een chronisch rheumatoïde arthritis, één met de Morbus Hodgkin en één met een acute myeloïde leucaemie.

B. Bespreking

Uit onze onderzoeken is gebleken, dat afgezien van de patiënten met een paraproteïnaemie, er geen verband bestaat tussen de gedefibrineerde B.S.E. en het gehalte van een aantal serumeiwitten. Met andere woorden: men kan bij patiënten met weefselverval niet op grond van hun gedef. B.S.E. zeggen, of zij een verhoogd globulinen- of gammaglobulinengehalte hebben.

Onze bevindingen zijn tegenstrijdig met die van Bendien (1932) en van Groen (1953). Nu waren de conclusies van Groen gebaseerd op de bezinking na twee uur, en de onze op die na één uur. Mogelijk dat dit het verschil in uitkomst kan verklaren. Waarschijnlijk is dit echter niet. Bij kritisch bekijken van de resultaten van Groen zijn de getoonde correlaties niet overtuigend en gebaseerd op het verband tussen de gedef. B.S.E. en door uitzouting verkregen fracties van de serumeiwitten. In ons eigen onderzoek onderzochten wij het verband tussen het met de Mancini methode bepaalde gehalte van een aantal serumeiwitten en de gedef. B.S.E. De kwantitatieve bepaling van deze eiwitten met de Mancini methode (1965) is ongetwijfeld nauwkeuriger en specifiekere dan de door Groen (1953) gebruikte pseudo- en euglobulinbepalingen volgens Majoor. De onbruikbaarheid van de gedef. B.S.E. als "screening"-methode is voor een deel te verklaren door de grote invloed, die de haematocriet op deze bepaling heeft.

In de inleiding schreven wij, dat de methode ons inziens wel bruikbaar was als "screening"-methode op het bestaan van een paraproteïnaemie. Meestal was bij deze patiënten de gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur. Dat niet iedere gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur het gevolg is van de aanwezigheid van een paraproteïnaemie blijkt uit de bevinding, dat 4 van onze patiënten met alleen weefselverval, een gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur hadden.

4. DE GEDEFIBRINEERDE B.S.E. BIJ PATIËNTEN MET EEN PARAPROTEÏNAEMIE

A. Eigen onderzoek

Bij patiënten met een hoog gehalte aan paraproteïnen in het plasma vindt men meestal een gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur. Een aantal van deze patiënten tonen wij U in tabel XVIII. Van sommige patiënten geven wij een aantal waarnemingen.

Uit de tabel blijkt, dat twee patiënten met een relatief laag paraproteïnengehalte een gedef. B.S.E. lager dan 50 mm/uur hebben. Kennelijk is de hoge gedef. B.S.E. (50 mm/uur) niet gebonden aan de aanwezigheid van een paraproteïne, maar aan het sterk verhoogde γ -globulinengehalte.

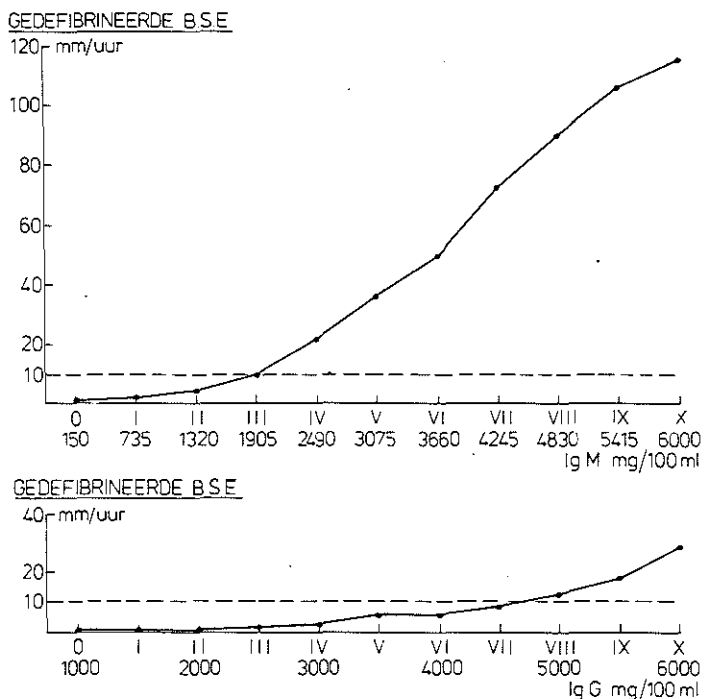
Tabel XVIII. De gedefibrineerde B.S.E. bij 9 patiënten met een paraproteïnaemie.

Patiënt nr.	Type para-proteïnaemie	Het gehalte in mg/100 ml (Mancini)	Het γ -globulinen-gehalte g/l (electrophorese)	De gedefibrineerde B.S.E. in mm/uur
1	IgG	3080	28.4	5
2	IgG	6900	48.8	63
	"	4147	45.5	91
3	IgG	6000	55	97
	"	7320	81	118
4	IgG	—	43.6	116
5	IgG	—	50.3	75
6	IgG	—	56.5	102
7	IgA	—	43.7 (β -glob.)	125
8	IgM	2200	22	40
9	IgM	6210	32.2	144
	"	5340	36.7	143
	"	6480	36.8	137

Bij een onderzoek met erythrocyten gesuspendeerd in verschillende dextranoplossingen, vond Hardwicke (1952) een kromlijinig verband tussen de B.S.E. en de dextranconcentratie. Tot een bepaalde dextranconcentratie zag hij een langzame stijging, daarna bij verdere concentratieverhoging een snelle stijging van de B.S.E. Een dergelijke relatie tussen het gehalte van het IgG, IgA en IgM met de B.S.E. zou kunnen verklaren waarom de gedef. B.S.E. bij patiënten met een juist verhoogd γ -globulinegehalte nog relatief laag, en bij patiënten met een hoog γ -globulinegehalte nog relatief hoog is.

Om dit te onderzoeken hebben wij bij twee patiënten met een IgG- en een IgM-paraproteïnaemie een verdunningsreeks van hun serum gemaakt met serum van een gezonde proefpersoon met de bloedgroep O. Deze verdunningsreeksen bestonden ieder uit 11 serummonsters (zie figuur 27), waarbij nr. O het serum van de proefpersoon en nr. X van de patiënt alleen was. Serum nr. I was een mengsel van 9 delen serum van de gezonde proefpersoon met één deel van de patiënt; bij serum nr. II was deze verhouding 8 : 2 etc. etc. Aan al deze serummonsters voegden wij de O-erythrocyten van onze proefpersoon toe in een dusdanige verhouding met het serum, dat er steeds een haematocriet van 40% ontstond. Vervolgens werd van iedere patiënt de gedef. B.S.E. bepaald (n.b. in principe is dit geen gedef. B.S.E., daar het serum niet door defibrineren werd verkregen).

De patiënt met de IgG-paraproteïnaemie (nr. 30 in de verzameltabel achterin) heeft een IgG-gehalte van ± 6000 mg/100 ml. Wanneer wij deze van de gezonde proefpersoon op 1000 mg/100 ml stellen, kan men voor ieder van de serummengsels bij benadering het IgG-gehalte berekenen. Op gelijke wijze bereken-



Figuur 27. Het verband tussen het gehalte van IgG en IgM met de gedefibrineerde B.S.E. bij twee patiënten met een paraproteïnaemie.

den wij het IgM-gehalte van de serummonsters van de patiënt met een IgM-paraproteïnaemie (nr. 49 in de verzameltabel). Het IgM-gehalte was ook ± 6000 mg/100 ml en het IgM-gehalte van de proefpersoon werd op 150 mg/100 ml gesteld. Het verband tussen het gehalte van het IgG en het IgM en de gedef. B.S.E. van deze twee patiënten tonen wij in figuur 27.

Wij zien, dat zowel het IgG-, als het IgM-gehalte met de gedef. B.S.E. een kromlijinig verband vertoont. Bekijken wij de curve, die het verband tussen het IgG-gehalte en de gedef. B.S.E. geeft, dan zien wij dat er tot een gehalte van circa 4000 mg/100 ml nauwelijks een stijging van de gedef. B.S.E. te zien is. Bij onze patiënten met weefselverval is de hoogste IgG-waarde 2565 mg/100 ml, dit is ruim binnen het gebied waar het IgG weinig invloed heeft op de geldrolvorming. Bij de IgM-curve zien wij, dat tot circa 1900 mg/100 ml er een geringe stijging van de gedef. B.S.E. is te zien.

B. Bespreking

Het door ons aangetoonde kromlijnige verband tussen respectievelijk het IgG- en het IgM-gehalte met de gedef. B.S.E. verklaart de ongevoeligheid van de

gedef. B.S.E. om een stijging van het IgG of van het IgM bij patiënten met weefselverval aan te tonen.

Wel moeten wij bij deze conclusie beseffen, dat wij in onze verdunningsreeks in ieder serummonster ook een verschillend gehalte van de andere serum-eiwitten hebben. Met name zal het albuminegehalte in alle monsters variëren. Uit de literatuur is bekend, dat de toevoeging van albumine aan erythrocyten gesuspenderd in een fibrinogeenoplossing de bezinking doet dalen (Gordon 1943). Ons inziens kan dit het kromlijng verband echter niet verklaren, daar het concentratieverval van het albumine in de verdunningsreeks veel kleiner is dan die van het IgG. Zo was het albuminegehalte van de patiënt met een IgG-paraproteïnaemie 2800 mg/100 ml; van de gezonde proefpersoon zal deze circa 4500 mg/100 ml zijn.

5. DE RELATIE TUSSEN DE SERUMVISCOSITEIT EN EEN AANTAL SERUMEIWITTEN

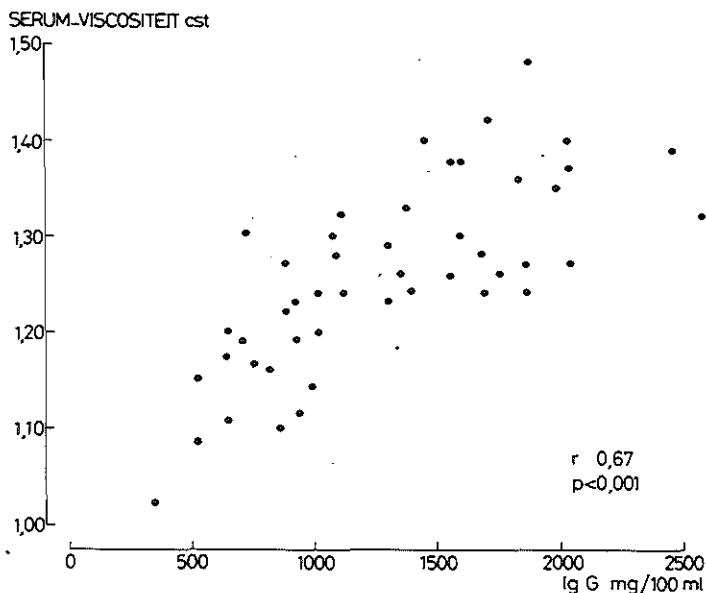
A. Eigen onderzoek

De relatie tussen de serumviscositeit en een aantal serumeiwitten onderzochten wij bij 41 patiënten (zie verzameltabel achterin: kolom hoofdstuk VIII-C). Deze patiënten hadden allen een ziekteproces, waarvan aangenomen wordt, dat dit met weefselverval gepaard gaat. Van deze patiënten laten wij in tabel XIX de door ons berekende correlatiecoëfficiënten zien tussen de S.V. en het gehalte van een aantal serumeiwitten.

Tabel XIX. De relatie tussen de serumviscositeit en het gehalte van een aantal serumeiwitten bij 41 patiënten met weefselverval.

	Serumeiwit	r	p
Serumviscositeit	Albumine	0.13	n.s.
	Transferrine	0.13	n.s.
	α_1 -zure glycoproteïne	0.12	n.s.
	α_1 -antitrypsine	0.05	n.s.
	Haptoglobine	0.34	< 0.05
	IgG	0.67	< 0.001
	IgA	0.26	n.s.
	IgM	0.39	< 0.05

Uit de tabel blijkt, dat het IgG in ons patiëntenmateriaal de hoogste positieve correlatiecoëfficiënt heeft (r 0.67, p < 0.001). Ook het haptoglobine (r 0.34, p < 0.05) en het IgM (r 0.39, p < 0.05) hebben een significant positieve correlatie. Van het IgG en de serumviscositeit tonen wij het verband in figuur 28.



Figuur 28. De relatie tussen de serumviscositeit en het IgG-gehalte.

B. Bespreking

In tegenstelling tot de gedef. B.S.E. vertoont de serumviscositeit een duidelijke correlatie met het gehalte van een aantal serumeiwitten. Vooral met het IgG werd een hoog significant positieve correlatie gevonden. In mindere mate hebben ook het IgM en het haptoglobine een invloed op de S.V.

In wezen mag men uit dit onderzoek alleen concluderen, dat de serumviscositeit bij patiënten met weefselverval voornamelijk varieert met hun IgG- en in mindere mate met hun IgM- en haptoglobinegehalte. De andere serumeiwitten hebben weinig invloed. De bijdrage, die een serumeiwit aan de S.V. levert, hangt af van zijn concentratie en intrinsieke viscositeit (zie hoofdstuk III, blz. 35). Dat het IgG wel en het albumine geen significante correlatie met de S.V. heeft, komt door de hogere intrinsieke viscositeit van het IgG. De veel geringere invloed, die het IgM, ondanks zijn hogere intrinsieke viscositeit heeft in vergelijking met het IgG op de S.V., is te verklaren door de relatief lagere IgM-concentraties in ons patiëntenmateriaal (zie verzameltabel achterin).

Van het haptoglobine is ons de intrinsieke viscositeit niet bekend. Uit het feit, dat dit serumeiwit wel een invloed heeft op de S.V. en zijn vrij lage concentraties in ons patiëntenmateriaal, moeten wij postuleren dat deze hoog zal zijn. Waarschijnlijk tussen die van het IgG en het IgM in.

6. DE SERUMVISCOSITEIT EN DE SERUMELECTROPHORESE ALS MAAT VOOR HET GAMMAGLOBULINENGHEALTE

A. Eigen onderzoek

Bij 48 patiënten, die aangegeven zijn in de verzameltabel achterin (kolom VIII-B, uitgezonderd patiënten nrs. 30, 31 en 37) hebben wij de onderlinge relatie onderzocht tussen de gedef. B.S.E., S.V., γ -globulinengehalte, IgG-, IgA- en IgM-gehalte. De gebruikte methoden zijn in hoofdstuk IV beschreven. De patiënten hebben allen een ziekte, die gepaard gaat met weefselverval. In tabel XX geven wij de door ons berekende correlatiecoëfficiënten weer met hun overschrijdingskans.

Tabel XX. De onderlinge relatie tussen de gedef. B.S.E., de S.V., het gammaglobulinengehalte, het IgG, het IgA en het IgM bij 48 patiënten met weefselverval.

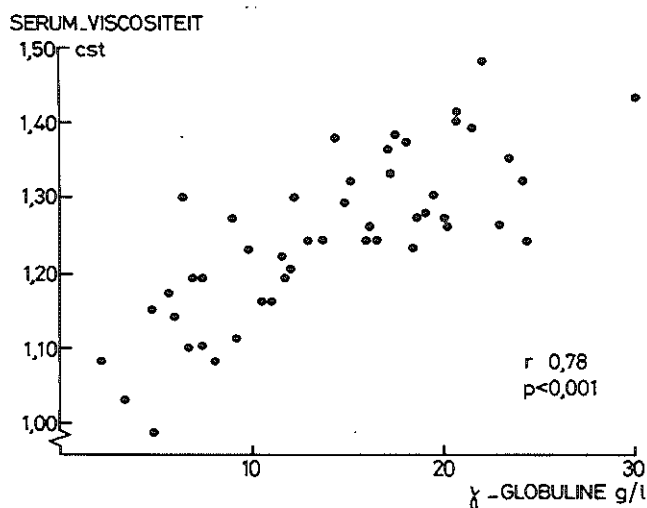
Bepalingsmethoden		r	p
gedef. B.S.E.	S.V.	0.29	n.s.
	γ -glob.	0.16	n.s.
	IgG	0.29	n.s.
	IgA	0.12	n.s.
	IgM	0.17	n.s.
S.V.	γ -glob.	0.78	< 0.001
	IgG	0.54	< 0.001
	IgA	0.45	< 0.01
	IgM	0.38	< 0.01
γ -globulinen	IgG	0.87	< 0.001
	IgA	0.51	< 0.001
	IgM	0.22	n.s.
IgG	IgA	0.44	< 0.01
	IgM	0.35	< 0.05
IgA	IgM	0.11	n.s.

De relatie tussen de S.V. en het γ -globulinengehalte (serumelectrophorese) tonen wij in figuur 29.

B. Bespreking

Uit het vinden van een hoog significant positieve correlatie tussen de S.V. en het gammaglobulinengehalte bepaald met de serumelectrophorese blijkt nogmaals dat de S.V. een maat is voor de gammaglobulinen.

Vergelijkt men de S.V. en het gammaglobulinengehalte (serumelectrophorese) met het volgens de Mancini methode bepaalde IgG-, IgA- en IgM-gehalte,



Figuur 29. De relatie tussen de serumviscositeit en het γ -globulinengehalte (serumelectrophorese) bij 48 patiënten met weefselverval.

dan zien wij twee verschillen. Ten eerste vallen de duidelijk hogere correlatiecoëfficiënten op, die het gammaglobulinengehalte (serumelectrophorese) heeft met het IgG ($r = 0.87$) en met het IgA ($r = 0.51$). Ten tweede zien wij, dat het gammaglobulinengehalte géén, de S.V. wél een significant positieve correlatie heeft met het IgM-gehalte.

Concluderend kan men stellen, dat beide methoden, de serumelectrophorese en de S.V., een maat zijn voor het gammaglobulinengehalte. De serumelectrophorese lijkt, gezien zijn hogere correlatiecoëfficiënt met respectievelijk het IgG en het IgA (bepaald langs immunochemische weg), specifiekier dan de S.V. De serumviscositeit is gevoeliger dan de serumelectrophorese voor veranderingen van het IgM-gehalte.

7. NABESCHOUWING

In dit onderzoek hebben wij de S.V. en de gedef. B.S.E. bij een groep patiënten vergeleken als "screening"-methoden op het bestaan van een verhoogd globulinen- en dan vooral gammaglobulinengehalte.

De gedef. B.S.E. is een ongeschikte methode om een verhoogd gammaglobulinengehalte aan te tonen bij patiënten met weefselverval. Dit wordt veroorzaakt door de invloed, die de haematocriet op de bepaling heeft, door de ongevoeligheid van de gedef. B.S.E. voor variaties van de gammaglobulinen met juist boven normaal verhoogde waarden en ten dele door niet verklaarde factoren. De

enige waarde, die deze methode ons inziens heeft is, dat deze bij patiënten met een zeer hoog gammaglobulinengehalte (b.v. bij de ziekte van Kahler) meestal hoger is dan 50 mm/uur, hoewel dergelijke hoge waarden niet pathognomostisch zijn voor een ziekteproces met een paraproteïnaemie.

Het feit, dat de S.V. wel een verband vertoont met het IgG-, het IgA-, het IgM- en het gammaglobulinengehalte (serumelectrophorese) bij patiënten met weefselverval, maakt hem als "screening"-methode geschikt om patiënten met een verlaagd, normaal of verhoogd gammaglobulinengehalte van elkaar te onderscheiden. In het volgende hoofdstuk zullen wij nagaan in hoeverre deze methode bruikbaar is voor de praktijk.

8. CONCLUSIES

1. De relatie tussen de gedef. B.S.E. en de serumviscositeit is niet rechtlijnig, maar S-vormig.

2. Het ontbreken van een rechtlijnig verband tussen deze twee grootheden wil zeggen, dat veranderingen in de samenstelling van de serumeiwitten niet dezelfde invloed op respectievelijk de geldrolvorming (of bloedbezinking) en op de serumviscositeit hebben.

3. De gedef. B.S.E. is een ongeschikte methode om bij patiënten een licht of matig verhoogd gammaglobulinengehalte te constateren. Dit komt ten dele door de grote invloed, die de haematocrietwaarde op de bepaling heeft en ten dele omdat de gedef. B.S.E. met respectievelijk het IgG-, met het IgM- en waarschijnlijk met het IgA-gehalte een dusdanig kromlijinig verband heeft, dat hij weinig gevoelig is voor veranderingen in het gammaglobulinengebied, die juist boven de normale waarde liggen.

4. Dit kromlijnige verband is de verklaring voor het fenomeen dat patiënten met een zeer hoog gammaglobulinengehalte (b.v. bij de ziekten van Kahler of van Waldenström) zich wel kenmerken door een hoge gedef. B.S.E. (>50 mm/uur). Gezien het feit, dat 4 patiënten van ons zonder een paraproteïnaemie een gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur hadden, is het vinden van zo'n hoge gedef. B.S.E. echter niet bewijzend voor de ziekte van Kahler.

5. De serumviscositeit toont wel verband met veranderingen van bepaalde serumeiwitten. In ons patiëntenmateriaal vonden wij tussen de S.V. en respectievelijk het IgG-, het IgM- en het haptoglobinegehalte een significant positieve correlatie.

6. Veranderingen in het albuminegehalte hebben weinig invloed op de serumviscositeit.

7. Op grond van de laatste twee conclusies mag men verwachten dat de meting van de serumviscositeit een goede methode is om onderscheid te maken tussen sera met verlaagd, normaal of verhoogd gammaglobulinengehalte. Dit in tegenstelling tot de gedef. B.S.E.

8. De serumviscositeit heeft een hoog significant positieve correlatie met het electrophoretisch bepaalde gammaglobulinegehalte. Van deze twee methoden is de laatste een waarschijnlijk meer specifieke bepalingmethode. De serumviscositeit is gevoeliger dan de serumelectrophorese voor veranderingen in het IgM-gehalte.

HOOFDSTUK IX

DE KLINISCHE BETEKENIS VAN DE GELIJKTIJDIGE BEPALING VAN PLASMA- EN SERUMVISCOSITEIT

1. INLEIDING

Tot nu toe hebben wij de relaties onderzocht tussen de B.S.E. en de P.V., tussen de gedef. B.S.E. en de S.V. en tussen de " δV " en de andere "acute phase reactants". Hieruit bleek ons, dat de gedef. B.S.E. niet en de S.V. wél een maatstaf was voor het gammaglobulinegehalte. Verder gedroeg de " δV " zich als een "acute phase reactant" en is als zodanig in de kliniek te gebruiken.

In dit hoofdstuk zullen wij nagaan in hoeverre de gelijktijdige bepaling van de plasma- en serumviscositeit als methode bruikbaar is in de kliniek. Vragen, die wij ons hierbij stelden zijn:

1. Hoe is de gevoeligheid van de " δV "-bepaling in vergelijking met andere "acute phase reactants" om weefselverval aan te tonen?
2. Bij welke waarde van de serumviscositeit kan men van een verhoogd, normaal of verlaagd gammaglobulinegehalte spreken?
3. In hoeverre heeft deze methode een differentieel diagnostische betekenis?
4. Hoe is de viscositeitsbepaling in vergelijking met de B.S.E. en de serum-electrophorese als "screening"-methode op het bestaan van veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten?

2. GEVOELIGHEID VAN " δV " EN ANDERE "ACUTE PHASE REACTANTS" ALS INDICATOR VOOR WEEFSELVERVAL

A. Eigen onderzoek

Dit onderzoek werd bij 41 patiënten uitgevoerd. Deze 41 patiënten hebben met elkaar gemeen, dat zij allen een ziekte hebben waarvan bekend is, dat deze met weefselverval gepaard gaat (zie verzameltabel achterin: kolom VIII-B). Ons uitgangspunt is, dat die "acute phase reactant" die de meeste keren verhoogd is

in vergelijking met onze normale waarden, de gevoeligste indicator is voor weefselverval. Hierbij nemen wij aan, dat al onze patiënten weefselverval hebben t.g.v. hun ziekte.

In tabel XXI tonen wij van ieder plasma-eiwit (= "acute phase reactant") het aantal waarden, die in vergelijking met de normale waarden verhoogd zijn. Daar men in de kliniek het electrophoretisch bepaalde α_1 - en α_2 -globulinegehalte ook gebruikt als indicator voor weefselverval, geven wij van deze twee parameters ook het aantal verhoogde waarden weer in tabel XXI.

Tabel XXI. Het aantal t.o.v. de normale waarden verhoogde gehalten van "acute phase reactants" bij 41 patiënten met weefselverval.

Plasma-eiwit	Aantal patiënten	Aantal verhoogde waarden
" δV "	41	33 (81%)
α_1 -zure glycoproteïne	41	40 (97%)
α_1 -antitrypsine	41	25 (61%)
haptoglobine	41	10 (24%)
α_1 -globulinen	41	29 (70%)
α_2 -globulinen	41	35 (85%)

B. Bespreking

Hoewel de gevonden verschillen niet erg groot zijn, lijkt het α_1 -zure glycoproteïne de gevoeligste indicator voor weefselverval. De " δV "-waarde en de α_2 -globulinen zijn gevoelige, de α_1 -globulinen en het α_1 -antitrypsine matig gevoelige indicatoren. Het haptoglobine is ongevoelig als indicator voor weefselverval.

De gevoeligheid van een "acute phase reactant" als indicator voor weefselverval wordt door een aantal factoren bepaald. Deze factoren zijn o.a. de reactie van dat eiwit op weefselverval, de spreiding van zijn normale waarden en of er bij weefselverval andere processen bestaan, die ook het gehalte beïnvloeden. Voorbeelden van zulke processen zijn de daling van het haptoglobinegehalte bij haemolyse (Owen 1964, Nyman 1959) en de daling van het fibrinogeengehalte bij intravasale stolling.

In hoofdstuk VII toonden wij aan, dat alle door ons onderzochte "acute phase reactants" in ongeveer dezelfde mate op weefselverval reageerden. Waarschijnlijk zal een verschil in reactie op weefselverval geen belangrijke variabele zijn.

De spreiding van de normale waarden tonen wij in tabel XXII. Hierin geven wij weer de gemiddelde waarde, de standaarddeviatie en de variatiecoëfficiënt (S.D. in % van het gemiddelde). Hoe groter dit percentage is, des te groter is de spreiding van de normale waarden. Op deze wijze kunnen wij de spreiding van de

normale waarden van de door ons onderzochte "acute phase reactants" onderling vergelijken.

Tabel XXII. De gemiddelde waarde, de standaarddeviatie en de variatiecoëfficiënt van de "acute phase reactants" in de contrôlegroepen

Contrôlegroep ouder dan 50 jaar				
"acute phase reactant"		gemiddelde waarde	S.D.	variatie-coëfficiënt
" δV "	(cst.)	0.135	± 0.027	$\pm 20\%$
α_1 -zure glycoproteïne	(mg/100 ml)	76	± 13	$\pm 17\%$
α_1 -antitrypsine	(mg/100 ml)	288	± 57	$\pm 19\%$
Haptoglobine	(mg/100 ml)	239	± 100	$\pm 41\%$
α_1 -globulinen	(g/l)	1.4	± 0.6	$\pm 42\%$
α_2 -globulinen	(g/l)	6.7	± 0.9	$\pm 13\%$

Contrôlegroep jonger dan 50 jaar				
"acute phase reactant"		gemiddelde waarde	S.D.	variatie-coëfficiënt
" δV "	(cst.)	0.085	± 0.017	$\pm 20\%$
α_1 -zure glycoproteïne	(mg/100 ml)	78	± 18	$\pm 23\%$
α_1 -antitrypsine	(mg/100 ml)	246	± 39	$\pm 16\%$
Haptoglobine	(mg/100 ml)	121	± 51	$\pm 42\%$
α_1 -globulinen	(g/l)	1.4	± 0.05	$\pm 36\%$
α_2 -globulinen	(g/l)	5.5	± 1.3	$\pm 24\%$

In tabel XXII zien wij, dat het haptoglobine en de α_1 -globulinen een aanzienlijk grotere spreiding van hun normale waarden hebben dan b.v. de " δV "-waarde. Dit verklaart ons inziens voor een deel de ongevoeligheid van deze parameters voor weefselverval. Dezelfde grote spreiding van de normale waarden van het haptoglobine werd door Clarke (1968) beschreven. De geringere gevoeligheid van het α_1 -antitrypsine als indicator voor weefselverval is niet met een grotere normale spreiding te verklaren. De bevinding, dat het α_1 -antitrypsine een minder goede parameter voor de activiteit van een ziekteproces is dan het α_1 -zure glycoproteïne is in overeenstemming met de publicatie van Cleve (1966).

Voor ons eigen onderzoek is het belangrijkste, dat de " δV "-waarde een redelijk gevoelige indicator is voor het aantonen van weefselverval.

3. DE SERUMVISCOSITEIT ALS MAATSTAF VAN HET GAMMAGLOBULINERGEHALTE

A. Inleiding

In *hoofdstuk VIII* beschreven wij een significant positieve correlatie tussen de S.V. en respectievelijk het IgG-, het IgM- en het haptoglobinegehalte. Vooral

het IgG heeft een relatief grote bijdrage, hetgeen suggereert, dat de S.V. een bruikbare maat is om een ten opzichte van de norm veranderd gammaglobulinegehalte aan te tonen. Dit werd gevonden bij een groep patiënten, die als belangrijkste overeenkomst hadden een ziekteproces met weefselverval. Al deze ziekten zullen een verhoogd haptoglobinegehalte hebben. Gezien het feit, dat het haptoglobine ook een relatief grote invloed heeft op de serumviscositeit (zie hoofdstuk VIII), kan men verwachten dat een groep patiënten met weefselverval maar zonder hypergammaglobulinaemie hogere S.V.-waarden heeft dan onze controlegroep. Of met andere woorden: men mag niet zonder meer zeggen, dat een serum met een S.V., die boven de hoogste normale waarde valt een verhoogd gammaglobulinegehalte heeft. Daarentegen mag men bij patiënten zonder weefselverval stellen, dat een verhoogde S.V.-waarde (t.o.v. de normale waarden) het gevolg is van een verhoogd gammaglobulinegehalte.

Ons doel hier is om na te gaan boven welke S.V.-waarde men kan spreken van een verhoogd gammaglobulinegehalte bij patiënten met weefselverval.

B. Eigen onderzoek

Wij deden dit onderzoek bij 48 patiënten met weefselverval. Zij staan vermeld in de verzameltabel achterin onder kolom VIII-B. Uitgesloten werden drie patiënten met een paraproteïnaemie, de nrs. 30, 31 en 37.

Om te kunnen bepalen boven welke S.V. men kan spreken van een verhoogd, normaal of verlaagd gammaglobulinegehalte verdeelden wij onze patiënten op grond van hun IgG-, IgM- en IgA-gehalte in 7 groepen. De spreiding van de S.V.-waarden van respectievelijk deze 7 groepen en van de controlegroepen jonger en ouder dan 50 jaar tonen wij in figuur 30.

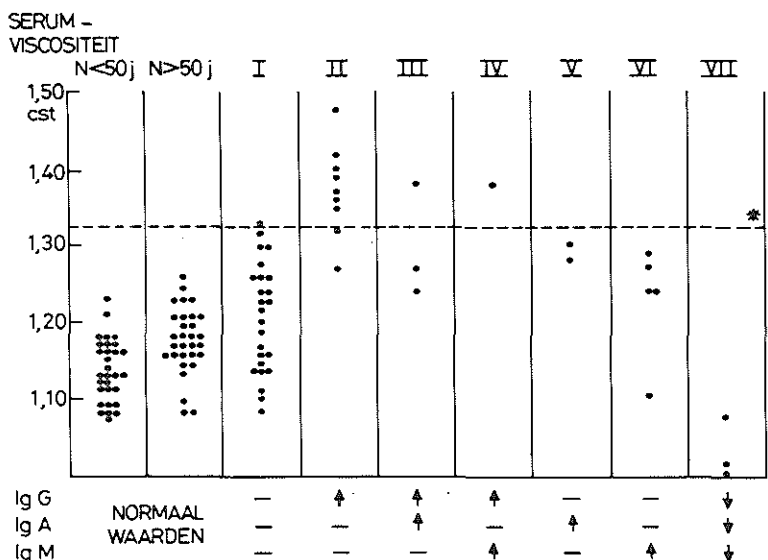
In figuur 30 zien wij, dat de hoogste S.V.-waarde in patiëntengroep I, dit zijn patiënten met weefselverval zonder een verhoogd gammaglobulinegehalte, hoger is dan de hoogste S.V.-waarde van de controlegroepen. De hoogste S.V.-waarde in groep I is 1.335 cst.

Drie patiënten met een sterk verlaagd gammaglobulinegehalte hebben een buiten het normale gebied verlaagde S.V.-waarde.

C. Bespreking

Ons onderzoek bevestigde het in de inleiding uitgesproken vermoeden, dat men bij patiënten met weefselverval niet de hoogste S.V.-waarden van de controlegroepen als grens voor het bestaan van een normaal of verhoogd gammaglobulinegehalte kan gebruiken. Deze grens ligt bij 1.33 à 1.34 cst. Wel kan men bij deze patiënten de ondergrens van het normale spreidingsgebied gebruiken om te bepalen of er een verlaagd gammaglobulinegehalte is. Waarschijnlijk is deze hogere grenswaarde het gevolg van het verhoogde haptoglobinegehalte.

Voor de interpretatie van de S.V.-waarde als maat voor het gammaglobulinegehalte moet men dus weten of er weefselverval is of niet. Het aan- of afwe-



Figuur 30. De spreiding van de waarden van de serumviscositeit van onze controlegroepen jonger en ouder dan 50 jaar, in vergelijking met de patiënten gerangschikt naar hun IgG-, IgA- en IgM-gehalte.

zig zijn van weefselverval kan men nagaan met de “ δV ”-waarde.

4. DIFFERENTIEEL DIAGNOSTISCHE MOGELIJKHEDEN VAN DE GE- LIJKTUJDIGE BEPALING VAN PLASMA- EN SERUMVISCOSITEIT

A. De differentieel diagnostische mogelijkheden

Bij gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. heeft men in de “ δV ” een indicator voor weefselverval en in de S.V. een maat voor het gammaglobulinen-gehalte. Het is noodzakelijk om bij een bepaalde S.V. de “ δV ”-waarde te weten. In de vorige paragraaf toonden wij nl. aan, dat de S.V.-grens tussen een normaal en verhoogd gammaglobulinengehalte bij patiënten met weefselverval hoger ligt dan de spreiding van de normale waarden (zie figuur 30). Zo mag men bij weefselverval pas boven 1.33 à 1.34 cst. spreken van een verhoogd gammaglobulinen-gehalte. Is er een normale “ δV ”-waarde, dan kan men van een verhoogd gamma-
globulinengehalte spreken, als de S.V.-waarde boven het normale S.V.-gebied ligt. Tenslotte kenmerkt een verlaagd gammaglobulinengehalte zich door een S.V.-waarde, die onder het normale S.V.-gebied ligt.

In de kliniek kan men een verlaagde, normale of verhoogde “ δV ”- respec-
tieveijk S.V.-waarde vinden. In tabel XXIII geven wij 10 verschillende combina-

Tabel XXIII. De 10 mogelijke combinaties tussen "δV" en S.V. met de klinische interpretatie.

"δV"-waarde	Serumviscositeit	Klinische interpretatie
I. Patiënten met een normale "δV" < 50 jaar: * tussen 0.05 - 0.12 cst. > 50 jaar: ** tussen 0.08 - 0.19 cst.	1). S.V. - normaal < 50 jaar: 1.066 - 1.218 cst. > 50 jaar: 1.092 - 1.264 cst.	1). Geen aanwijzingen voor weefselverval of een veranderd gammaglobulinengehalte.
	2). S.V. ↑ < 50 jaar: hoger dan 1.218 cst. > 50 jaar: hoger dan 1.264 cst.	2). Ziekteproces zonder weefselverval en een verhoogd gammaglobulinengehalte (b.v. levercirrhose, paraproteïnaemie).
	3). S.V. ↓ < 50 jaar: lager dan 1.066 cst. > 50 jaar: lager dan 1.092 cst.	3). Ziekteproces zonder weefselverval en een verlaagd gammaglobulinengehalte (b.v. lymphatische leucemie, aangeboren hypogammaglobulinaemie).
	4). S.V. - normaal < 50 jaar: 1.066 - 1.34 cst. > 50 jaar: 1.092 - 1.34 cst.	4). Ziekteproces met weefselverval zonder een verhoogd gammaglobulinengehalte (b.v. carcinoom, hartinfarct).
	5). S.V. ↑ < 50 jaar: hoger dan 1.34 cst. > 50 jaar: hoger dan 1.34 cst.	5). Ziekteproces met weefselverval en een verhoogd gammaglobulinengehalte (b.v. chron. infectieziekte, chron. rheumatoïde arthritis).
	6). S.V. ↓ < 50 jaar: lager dan 1.066 cst. > 50 jaar: lager dan 1.092 cst.	6). Ziekteproces met weefselverval en een verlaagd gammaglobulinengehalte (b.v. nephrotisch syndroom, lymphatische leucemie).
II. Patiënten met een verhoogd "δV" < 50 jaar: hoger dan 0.12 cst. > 50 jaar: hoger dan 0.10 cst.	7). S.V. - normaal < 50 jaar: 1.066 - 1.218 cst. > 50 jaar: 1.092 - 1.264 cst.	7). Patiënten met een verlaagd fibrinogeengehalte en een normaal gammaglobulinengehalte (b.v. levercirrhose, intravasale stolling).
	8). S.V. ↑ < 50 jaar: hoger dan 1.218 cst. > 50 jaar: hoger dan 1.264 cst.	8). Patiënten met een verlaagd fibrinogeengehalte en een verhoogd gammaglobulinengehalte (b.v. levercirrhose).
	9). S.V. ↓ < 50 jaar: lager dan 1.066 cst. > 50 jaar: lager dan 1.092 cst.	9). Patiënten met een verlaagd fibrinogeengehalte en een normaal gammaglobulinengehalte
III. Patiënten met een verlaagde "δV" < 50 jaar: lager dan 0.05 cst. > 50 jaar: lager dan 0.08 cst.	10). S.V. > 1.60 cst.	10). Patiënten met een hoog paraproteïnegehalte
IV. Patiënten waarbij "δV" onbetrouwbaar is		

* < 50 jaar: de normale waarden van de controlegroep jonger dan 50 jaar.

** > 50 jaar: de normale waarden van de controlegroep ouder dan 50 jaar.

ties tussen "δV" en S.V. weer, met hun interpretatie. De patiënten met een S.V. hoger dan 1.60 cst. beschouwden wij als een aparte groep; ten eerste omdat bij een S.V. boven 1.60 cst. de "δV"-bepaling onbetrouwbaar is en ten tweede omdat het merendeel van de patiënten met een S.V. hoger dan 1.60 cst. een hoog gehalte aan paraproteïnen zal hebben. Dit laatste is min of meer arbitrair gesteld. Deze waarde van 1.60 cst. als grenswaarde tussen patiënten met een polyclonale of monoclonale hypergammaglobulinaemie is waarschijnlijk wel juist, gezien het onderzoek van Shearn (1963). Zijn bevindingen zijn met de onze vergelijkbaar, daar hij evenals wij de viscositeit bepaalde bij 37°C en uitdrukte in centistokes. Shearn vond op 55 patiënten met een reumatoïde arthritis of een lupus erythematoses desminatus 3 patiënten met een S.V.-waarde hoger dan 1.60 cst. Zelf vonden wij bij 11 patiënten met een polyclonale hypergammaglobulinaemie een S.V. van 1.49 cst. als hoogste waarde. Het merendeel van onze patiënten met de ziekte van Kahler heeft een S.V. hoger dan 1.60 cst.

B. Toetsing bij het eigen patiëntenmateriaal

In tabel XXIII is aan de hand van door experimenteel onderzoek vastgelegde grenzen een schema opgesteld. De grenzen zijn gebaseerd op een onderzoek bij een deel van onze patiënten. Wij zullen de bruikbaarheid van ons schema toetsen bij al onze patiënten met een bekende ziekteoorzaak (zie verzameltabel achterin). Hiervoor zullen wij het patiëntenmateriaal rangschikken volgens het door ons opgestelde schema naar hun "δV"- en S.V.-waarde. In alle hierop volgende

Tabel XXIV. Patiënten met een normale "δV"- en een normale S.V.-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)
I. Infectieziekten				
1. Chron. pyelonefritis	43	1.406	1.232	0.17
2. Tub. pleuritis	23	1.406	1.242	0.16
II. Bindweefselziekten				
3. Lupus erythem. dess.	30	1.239	1.124	0.11
4. Sclerodermie	48	1.358	1.193	0.17
III. Carcinomen (gemetastaseerd)				
5. Mamma	137	1.323	1.193	0.13
6. Prostaat	2	1.251	1.173	0.08
7. Cervix	6	1.346	1.163	0.18
8. Nier	58	1.263	1.084	0.18
IV. Diversen				
9. Levercirrhose	6	1.311	1.202	0.11
10. Levercirrhose	73	1.323	1.173	0.15
11. Levercirrhose	37	1.358	1.242	0.11

tabellen zullen wij de B.S.E.-, de P.V.-, de S.V.-, de "δV"-waarde en de ziekteoorzaak vermelden. Na iedere tabel zullen wij de gevonden ziekteoorzaken bespreken.

Bespreking tabel XXIV:

In tabel XXIV hebben wij 11 patiënten verzameld met een normale "δV"- en S.V.-waarde. Acht van deze patiënten hebben een verhoogde B.S.E. Deze tabel geeft aan bij hoeveel van onze patiënten een binnen de norm vallende "δV"-waarde en S.V.-waarde werd gevonden, terwijl bij een deel althans de B.S.E. verhoogd was. Op zich wil dit niet zeggen, dat de B.S.E. in het algemeen een gevoeligere methode is dan de gelijktijdige bepaling van de P.V. en S.V. om een ziekteproces op het spoor te komen, aangezien de meeste patiënten op grond van een verhoogde B.S.E. in de studie werden opgenomen.

Opvallend is vooral de discrepantie tussen de B.S.E. en de viscositeitsbepaling bij een patiënt met levercirrhose.

Tabel XXV. Patiënten met een normale "δV"-waarde en een verhoogde S.V.-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)
1. IgG-paraproteïnaemie	18	1.466	1.301	0.17
2. IgM-paraproteïnaemie	70	1.585	1.449	0.14
3. Levercirrhose	71	1.513	1.380	0.13
4. Chron. rheum. arthritis	28	1.459	1.271	0.18

Bespreking tabel XXV:

Overeenkomstig de interpretatie van ons schema hadden 3 van de 4 patiënten met een normale "δV"- en verhoogde S.V.-waarde een ziekte waarbij weefselverval geen belangrijk kenmerk is. De twee patiënten met een paraproteïnaemie hadden geen tekenen van een maligne proces. Bij de patiënte met een chronische rheumatoïde arthritis is het niet uitgesloten, dat haar rheuma proces actief was. Haar "δV"-waarde was hoog normaal.

Tabel XXVI. Patiënten met een normale "δV"- en een verlaagde S.V.-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)
1. Lymfatische leucaemie	10	1.215	1.084	0.13
2. Lymfatische leucaemie	9	1.173	1.059	0.11
3. Lymfatische leucaemie	9	1.156	1.048	0.11

Bespreking tabel XXVI:

In ons schema stelden wij, dat de combinatie van een normale " δV " en verlaagde S.V. zou voorkomen bij patiënten zonder weefselverval en een verlaagd gammaglobulinengehalte; b.v. bij patiënten met een lymphatische leucaemie. Zo had patiënt nr. 1 een verlaagd IgG-gehalte van 510 mg/100 ml. Van de twee andere patiënten was het serum γ -globulinengehalte laag normaal; en wel voor patiënt nr. 2 7.2 g/l en voor nr. 3 6.1 g/l.

Bespreking tabel XXVII:

In ons betoog hebben wij steeds een verhoogde " δV "-waarde gekoppeld aan een ziekteproces met weefselverval. Voor 37 van de 38 patiënten van tabel XXVII is dit ook het geval. Al deze patiënten hebben een ziekteproces waarbij de typische veranderingen in het eiwitspectrum door weefselverval beschreven zijn in hoofdstuk II. Bij patiënt nr. 31 met een nephrotisch syndroom worden de veranderingen in het eiwitspectrum niet door weefselverval veroorzaakt, maar door eiwitverlies via de nieren. In absolute zin mag men dus niet zeggen, dat een verhoogde " δV " altijd betekent, dat er een ziekteproces met weefselverval is. Wel onderscheidt deze patiënt zich van de andere patiënten met een verhoogde " δV "-waarde door zijn in verhouding lage S.V. (1.10 cst.) tot zijn hoge " δV "-waarde. Bekijken wij b.v. de S.V.-waarden van patiënten nrs. 3, 8, 21, 25 en 36 met een vergelijkbaar hoge " δV "-waarde dan zien wij dat deze patiënten allen een S.V. hoger dan 1.20 cst. hebben.

Uit deze tabel blijkt verder een falen van het alléén bepalen van de P.V. als "screening"-methode op veranderingen in het eiwitspectrum. Gibson (1949) schreef in zijn artikel over de P.V. dat bij grensgevallen de B.S.E. een gevoeliger bepaling voor het aantonen van ziekte-activiteit dan de P.V. was. In ons eigen materiaal zien wij, dat 8 patiënten van de 36 een binnen het normale gebied vallende P.V.-waarde hebben. In tabel XXVII zijn dit patiënten nrs. 2, 4, 7, 14, 15, 16, 17 en 18. Dit komt waarschijnlijk door de grote spreiding van de normale S.V.-waarden. Heeft een patiënt een S.V.-waarde, die van origine laag is, dan zal de " δV " of beter het fibrinogeengehalte fors moeten stijgen om een P.V.-waarde te krijgen, die verhoogd is ten opzichte van de normale waarden.

Tabel XXVII. Patiënten met een verhoogde "δV"- en een normale S.V.-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)
I. Infectieziekten				
1. Chron. pyelonephritis	25	1.454	1.262	0.19
2. Chron. pyelonephritis	66	1.395	1.143	0.25
3. Empyeem (bacterieel)	132	1.680	1.242	0.44
4. Chron. pyelonephritis	26	1.394	1.173	0.22
5. Chron. pyelonephritis	100	1.597	1.301	0.29
6. Chron. pyelonephritis	84	1.525	1.232	0.29
7. Chron. pyelonephritis	93	1.346	1.104	0.24
8. Chron. pyelonephritis	32	1.585	1.222	0.36
II. Bindweefselziekten				
9. Chron. rheum. arthritis	86	1.561	1.271	0.29
10. Chron. rheum. arthritis	71	1.453	1.263	0.19
11. Chron. rheum. arthritis	34	1.542	1.301	0.24
12. Chron. rheum. arthritis	48	1.478	1.242	0.23
13. Chron. rheum. arthritis	72	1.525	1.321	0.20
14.* Chron. rheum. arthritis	27	1.299	1.114	0.19
15.* Chron. rheum. arthritis	3	1.299	1.173	0.13
III. Carcinomen (gemetastaseerd)				
16. Duodenum	28	1.370	1.163	0.21
17. Maag	31	1.382	1.193	0.19
18. Long	21	1.406	1.202	0.20
19. Mamma	126	1.478	1.262	0.21
20. Anaplastisch	89	1.454	1.183	0.27
21. Nier	59	1.764	1.291	0.47
22. Ovarium	13	1.442	1.242	0.20
23. Blaas	59	1.692	1.331	0.36
24. Mamma	33	1.513	1.321	0.19
25. Nier	131	1.740	1.330	0.41
IV. Ziekten van het lymphoreticulaire systeem				
26.* Morbus Hodgkin	32	1.358	1.153	0.21
27. Morbus Hodgkin	63	1.633	1.301	0.33
28. Morbus Hodgkin	60	1.585	1.281	0.30
V. Diversen				
29. Hartinfarct	60	1.561	1.242	0.32
30. Sarcoidosis	43	1.490	1.290	0.20
31. Nephrotisch syndroom	160	1.513	1.104	0.41
32.* Arteritis	58	1.335	1.193	0.14
33. Acut rheuma	23	1.609	1.271	0.33
34. Polymyalgia rheum.	60	1.466	1.222	0.24
35. Polymyalgia rheum.	105	1.668	1.331	0.33
36. Acut rheuma	125	1.692	1.321	0.37

* patiënten jonger dan 50 jaar.

Tabel XXVIII. Patiënten met een verhoogde "δV"- en S.V.-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)
I. Infectieziekten				
1. Pleuritis tuberculosa	100	1.871	1.479	0.40
2. Sepsis lenta	108	1.752	1.488	0.27
3. Bronchiëctasiën	106	1.750	1.487	0.27
II. Bindweefselziekten				
4. Chron. rheum. arthritis	107	1.764	1.429	0.34
5. Chron. rheum. arthritis	136	1.835	1.390	0.44
6. Lupus eryth. dess.	63	1.609	1.360	0.25
7. Chron. rheum. arthritis	38	1.573	1.350	0.22
8. Chron. rheum. arthritis	79	1.680	1.380	0.30
9. Chron. rheum. arthritis	136	1.788	1.400	0.39
III. Ziekten van het lymphoreticulaire systeem				
10. Morbus Hodgkin	78	1.835	1.380	0.46
11. Multiple myeloma (IgG)	124	1.728	1.538	0.19
12.* Blasten leucaemie	154	1.656	1.370	0.29
IV. Diversen				
13. Autoimmuun thyreoïditis	90	1.716	1.409	0.31

Bespreking tabel XXVIII:

In overeenstemming met ons schema vinden wij in deze groep alleen patiënten met een ziekteproces met weefselverval. Tevens is het γ -globulinegehalte verhoogd. De P.V.-waarden zijn hier alle duidelijk verhoogd, mede door hun verhoogde S.V.-waarde.

Tabel XXIX. Patiënten met een verhoogde "δV"- en een verlaagde S.V.-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)
1.* Nephrotisch syndroom	42	1.168	1.035	0.13
2.* Nephrotisch syndroom	88	1.323	1.064	0.26
3. Multiple myeloma	24	1.239	1.025	0.21

Bespreking tabel XXIX:

Twee van de drie patiënten met een verlaagde S.V.- en verhoogde "δV"-waarde hadden een nephrotisch syndroom. Bij een nephrotisch syndroom kan er een aanzienlijk verlies van eiwitten o.a. gammaglobulinen zijn via de urine;

* patiënten jonger dan 50 jaar.

dit verklaart de verlaagde S.V.-waarde. Eén patiënte leed aan de ziekte van Kahler, bij haar werden in het plasma en in de urine alléén Bence-Jones eiwitten aangetoond. De synthese van de normale γ -globulinen is in de regel bij deze patiënten verminderd. Het IgG-gehalte bij deze patiënte was 340 mg/100 ml, het IgA-gehalte 38.25 mg/100 ml en het IgM-gehalte 23 mg/100 ml.

Tabel XXX. Patiënten met een verlaagde "δV"-waarde.

Ziekteoorzaak	B.S.F. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)	"δV" (cst.)	Fibrinogeen vlg. "Clauss" (mg/100 ml)
1. Lymphatische leucaemie	8	1.048	0.98	0.06	147
2. Erythroblasten leucaemie	2	1.156	1.108	0.05	153
3. Levercirrhose	60	1.200	1.149	0.06	140

Bespreking tabel XXX:

In tabel XXX tonen wij drie patiënten met een verlaagde "δV"-waarde. Met de "Clauss"-methode werd ook een verlaagd fibrinogeen gehalte gevonden. Bij de patiënt met een levercirrhose is deze verlaging toe te schrijven aan de gestoorde leverfunctie. Bij de patiënten met een lymphatische respectievelijk erythroblasten leucaemie hebben wij geen verklaring. Beiden hadden een normaal albuminegehalte, zodat een ernstige leveraandoening als verklaring voor het verlaagde fibrinogeen gehalte onaannemelijk is. Mogelijk zijn het twee uiterste waarden van het normale gebied van fibrinogeen of is er bij deze patiënten sprake van intravasale stolling.

Tabel XXXI. Patiënten met een S.V.-waarde hoger dan 1.60 cst.

Ziekteoorzaak	B.S.E. (mm/uur)	P.V. (cst.)	S.V. (cst.)
1. Multiple myeloma (IgG)	114	2.157	1.804
2. Multiple myeloma (IgG)	137	2.646	2.129
3. Multiple myeloma (IgG)	116	1.823	1.675
4. Multiple myeloma (IgG)	135	2.021	1.835
5. Multiple myeloma (IgA)	130	2.467	2.279
6. Macroglob. v. Waldenström	146	3.579	3.178

Bespreking tabel XXXI:

Van zes van de acht patiënten met een paraproteïnaemie, die klinisch de kenmerken van de ziekte van Kahler of Waldenström hadden, was de serumviscositeit duidelijk hoger dan 1.60 cst. Het vinden van een S.V.-waarde hoger dan 1.60 cst. pleit tegen het bestaan van een polyclonale hypergammaglobulinaemie.

C. Bespreking

Hoewel het aantal bestudeerde patiënten relatief klein is, blijkt bij toetsing van onze patiënten op het in tabel XXIII gegeven schema, dat dit in de praktijk bruikbaar lijkt. In de gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. heeft men met de "δV" een gegeven omtrent de rol, die de lever speelt in het ziekteproces en in de S.V. een maat voor het gammaglobulinengehalte. Deze bepaling kan door het inzicht dat het geeft in het eiwitspectrum een bijdrage leveren tot de differentieële diagnostiek.

5. VERGELIJKING VAN DE B.S.E., DE VISCOSITEITSBEPALINGEN EN DE SERUMELECTROPHORESE

De B.S.E. en de serumelectrophorese worden in de praktijk het meest gebruikt als "screening"-methoden op het bestaan van veranderingen in het eiwitspectrum. Het is van belang aan het einde van onze studie de viscositeitsbepaling van plasma en serum als "screening"-methode te vergelijken met de bovengenoemde methoden om zo een indruk te krijgen welke vóór- en nadelen onze methode heeft.

Er zijn 4 punten waarop ons inziens bovengenoemde "screening"-methoden onderling vergeleken moeten worden:

1. Het gemak waarmee de betreffende methode in grote aantallen kan worden uitgevoerd.
2. De gevoeligheid van de methode om een ziekteproces aan te tonen.
3. Het inzicht dat de methode geeft in de samenstelling van de plasma-eiwitten.
4. De nauwkeurigheid van de methode.

ad 1). Het gemak waarmee de betreffende methode in grote aantallen kan worden uitgevoerd

Laboratorium technisch gezien is de B.S.E. de beste methode om grote aantallen patiënten te "screenen". Bezwaren wat dit punt betreft tegen de viscositeitsbepalingen met onze Oswald-capillairmeter zijn de vrij grote hoeveelheden benodigd plasma en serum en het noodzakelijke veelvuldige reinigen van de capillairen. Deze bezwaren zouden wegvallen wanneer men voor de viscositeitsbepalingen een instrument gebruikt dat door Harkness in 1963 werd geïntroduceerd en nu in de handel verkrijgbaar is. Hier heeft men voor een viscositeitsbepaling 1 ml plasma of serum nodig. Het is mogelijk om met dit apparaat in korte tijd een groot aantal bepalingen te verrichten.

De serumelectrophorese is even, zo niet bewerkelijker dan de viscositeitsbepaling. De benodigde hoeveelheid serum is gering.

ad 2). De gevoeligheid van de methoden om een ziekteproces aan te tonen

Onder de gevoeligheid verstaan wij het vermogen van een "screening"-methode om afwijkingen van de normale waarden aan te tonen. Om de drie genoemde "screening"-methoden op dit punt te vergelijken moet men het patiëntenmateriaal aselectief samenstellen, hetgeen in ons onderzoek niet is gebeurd. De meeste patiënten werden geselecteerd op grond van een verhoogde B.S.E., zodat bij ons patiëntenmateriaal een onderzoek naar de gevoeligheid van de "screening"-methoden niet mogelijk is.

De uitslag van zo'n onderzoek zou verder in hoge mate afhankelijk zijn van welke patiënten men onderzoekt. Zo zal men bij patiënten met een lymfatische leucaemie veelal een normale B.S.E.-waarde vinden, terwijl er wél afwijkingen kunnen zijn in de viscositeitsbepalingen en de serumelectrophorese (zie tabel XXVI). Bij patiënten met een levercirrhose zal men waarschijnlijk vaak een hoge B.S.E. vinden, terwijl de viscositeitsbepalingen binnen het normale gebied vallen.

ad 3). Het inzicht dat de methode geeft in de samenstelling van de plasma-eiwitten

Van de drie methoden geeft de B.S.E. samen met de gedefibrineerde B.S.E. de minste informatie over de veranderingen in het eiwitspectrum. Volgens vroegere onderzoekers (Bendien 1932, Groen 1953) is de gedefibrineerde B.S.E. een globale maat voor het globulinen- respectievelijk het γ -globulinegehalte. Zelf vonden wij, dat de gedefibrineerde B.S.E. een onbetrouwbare maat is voor het γ -globulinegehalte en als zodanig ook niet meer gebruikt moet worden. De serumviscositeit is wel een maat voor het γ -globulinegehalte.

Bij het gelijktijdig bepalen van de plasma- en serumviscositeit weet men of er een verlaagd, normaal of verhoogd gammaglobulinegehalte is. De " δV "-waarde is bij de meeste patiënten een indicator voor weefselverval. Dit is niet het geval bij patiënten met een nephrotisch syndroom. Een verlaagde " δV "-waarde kan wijzen op een synthese stoornis in de lever of op intravasale stolling.

Met de viscositeitsbepalingen heeft men geen maat voor het albuminegehalte. Bij het met de serumelectrophorese verkregen eiwitspectrum heeft men een maat voor het albuminegehalte, voor de aanwezigheid van weefselverval (α_1 - en α_2 -globulinegehalte) en voor het gammaglobulinegehalte. Verder kan men vaak een onderscheid maken tussen een mono- en polyclonale hypergammaglobulinaemie.

Van de drie methoden geeft de serumelectrophorese de meeste, de B.S.E. de minste informatie over de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum.

ad 4). De nauwkeurigheid van de methode

Het grote voordeel van de viscositeitsbepalingen boven de twee andere methoden is zijn veel grotere nauwkeurigheid. De bepalingfout van de plasmavisco-

siteit is circa 0.5%, van de B.S.E. 8%, en van de serumelectrophorese is hij voor iedere eiwitfractie verschillend. De fout voor de albuminefractie is vrij klein (2,5%), daarentegen zeer groot voor de α_1 -globulinen- (18%), voor de α_2 -globulinen- (12%), voor de β -globulinen- (13%) en voor de γ -globulinenfractie (12%). Wat betreft de serumelectrophorese slaat de bepalingfout op de door ons gebruikte methode en is deze niet van toepassing op andere bepalingsmethoden voor de serumelectrophorese.

CONCLUSIES

1. De B.S.E. is de methode, die het eenvoudigst uitvoerbaar is om te "screenen" op het bestaan van een ziekteproces. Hij is als methode onnauwkeurig en geeft geen inzicht in de samenstelling van de plasma-eiwitten.

2. De viscositeitsbepaling van plasma en serum is ook een eenvoudige bepaling, echter minder geschikt dan de B.S.E. om een groot aantal bepalingen achter elkaar uit te voeren. Het is een zeer nauwkeurige methode en geeft een redelijk inzicht in de veranderingen van de samenstelling van de plasma-eiwitten.

3. De serumelectrophorese is onnauwkeurig. Hij geeft wel de meeste informatie over de aard van de veranderingen in de samenstelling van de plasma-eiwitten. Zijn grote onnauwkeurigheid en grote spreiding van de normale waarden maakt de interpretatie vaak moeilijk.

6. NABESCHOUWING

Gezien de resultaten van ons onderzoek verdient de gelijktijdige bepaling van de plasma- en serumviscositeit meer aandacht van de praktiserende clinici. Het is een bijzonder nauwkeurige methode, die tevens inzicht geeft in de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum. De methode heeft veel voordelen boven de B.S.E. De uitvoering is eenvoudiger en nauwkeuriger dan de serumelectrophorese.

Zijn grote nauwkeurigheid maakt de viscositeitsbepaling vooral geschikt voor het vervolgen van de activiteit van een ziekteproces. Dit werd in ons onderzoek niet in zijn algemeenheid bewezen. Wel toonden wij dit aan voor patiënten met een hoge plasmaviscositeit (hoofdstuk V). Of dit ook voor andere ziekteprocessen geldt moet verder onderzocht worden.

7. CONCLUSIES VAN HOOFDSTUK IX

1. De " δV "-waarde is een redelijk gevoelige indicator voor weefselverval.
2. Bij patiënten met weefselverval wijst een S.V.-waarde hoger dan 1.34 cst. op een hypergammaglobulinaemie. Onder de S.V.-waarde van 1.092 resp. 1.066 cst. (voor mensen ouder respectievelijk jonger dan 50 jaar) is er

sprake van een hypogammaglobulinaemie. Zeer hoge waarden van de serumviscositeit (> 1.60 cst.) vindt men bij patiënten met een hoog paraproteïnegehalte.

3. Met behulp van de " δV "- en de S.V.-waarde kan men georiënteerd raken over 10 variaties in de samenstelling van het eiwitspectrum. De gelijktijdige bepaling van P.V. en S.V. is van waarde in de praktijk (toetsing bij eigen patiëntenmateriaal).
4. Door de grote nauwkeurigheid van de bepaling lijkt het de aangewezen methode om de activiteit van een chronisch ziekteproces te vervolgen.

8. SLOTBESCHOUWING

Aan het slot van deze verhandeling kunnen wij de vragen, die wij in de inleiding stelden, als volgt beantwoorden.

De gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. geeft meer informatie over de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum dan de gelijktijdige bepaling van de B.S.E. en de gedef. B.S.E. Met name is de gedef. B.S.E. in tegenstelling tot literatuurgegevens een onbetrouwbare maat voor het globulinegehalte. Mede hierdoor kan men het verschil tussen de B.S.E. en de gedef. B.S.E. niet gebruiken als een bepaling van het fibrinogeengehalte.

De " δV "-waarde is een betrouwbare maat voor het fibrinogeengehalte, mits de S.V. van het bloedmonster niet hoger is dan 1.60 cst. Boven deze S.V.-waarde wordt de viscometrische fibrinogeenbepaling onbetrouwbaar. Een S.V. hoger dan 1.60 cst. vindt men vooral bij patiënten met een hoog gehalte aan paraproteïnen, b.v. bij patiënten lijdende aan multiple myeloma of aan de ziekte van Waldenström.

Het grootste deel van de patiënten met weefselverval heeft een S.V. lager dan 1.60 cst. Bij deze patiënten kan men de " δV "-waarde gebruiken als een "acute phase reactant". De " δV "-waarde is in vergelijking met een aantal andere "acute phase reactants" een redelijk gevoelige indicator voor weefselverval.

Ons inziens is de waarde van de P.V. en de S.V. niet primair gelegen in zijn vermogen om inzicht te geven in het eiwitspectrum. De serumelectrophorese geeft b.v. meer informatie, hoewel een belangrijk nadeel van deze bepaling is, dat hij een grote bepalingfout heeft. De grote nauwkeurigheid van de viscositeitsbepaling maakt deze tot de beste methode om de activiteit van een ziekteproces te vervolgen. Zo zouden wij willen stellen, dat de S.V.-waarde bij uitstek geschikt is om de activiteit van de ziekten van Kahler en van Waldenström te vervolgen.

Interessant zou het zijn om een aantal chronisch zieke patiënten gedurende één jaar te vervolgen met verschillende parameters voor de activiteit van een ziekteproces; b.v. de B.S.E., een aantal "acute phase reactants", de serumelectrophorese, de P.V., de S.V. en de " δV ". Wel blijft voor de beoordeling van het resultaat van zo'n studie het probleem bestaan, dat wij geen ander goed objectief criterium hebben voor weefselverval.

SAMENVATTING

In *hoofdstuk I* stelden wij, dat de plasnaviscositeit (P.V.) als "screening"-methode op veranderingen in het eiwitspectrum minder aandacht heeft gekregen dan de bloedbezinking (B.S.E.). Dit ondanks de grotere nauwkeurigheid van de plasnaviscositeit en een aantal onderzoeken in het verleden, die vaststelden, dat de P.V. beter dan de B.S.E. de wisselingen in activiteit van een ziekteproces weergeeft.

Noch de P.V. noch de B.S.E. geven inzicht in de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum. Daarentegen zouden de serumviscositeit (S.V.) en de gede-fibrineerde bloedbezinking (gedef. B.S.E.) een maat voor het globulinen- respectievelijk het gammaglobulinengehalte zijn. Tevens heeft men bij de gelijktijdige bepaling van de P.V. en S.V. in hun verschil (" δV ") een maat voor het fibrinogeengehalte.

Wij stelden ons in deze studie de volgende vragen:

1. Welke van de twee methoden, de B.S.E. samen met de gedef. B.S.E. of de P.V. samen met de S.V. geeft het meeste inzicht in de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum?
2. In hoeverre is de " δV " een bruikbare maat voor het fibrinogeengehalte?
3. Hoe is de relatie tussen " δV " en een aantal andere "acute phase reactants"?

In *hoofdstuk II* beschreven wij de veranderingen in het eiwitspectrum, die kunnen ontstaan bij verschillende ziekten met weefselverval. De veranderingen in de gehalten van de door de lever gemaakte plasma-eiwitten zijn het gevolg van de reactie van de lever op weefselverval. De veranderingen in het γ -globulinengehalte zijn niet het gevolg van weefselverval, maar een reactie van het reticulo-endotheliale-systeem op prikkeling door een antigeen.

In *hoofdstuk III* gingen wij in op de theoretische achtergronden van de B.S.E. en de P.V. Het belangrijkste verschil tussen deze twee bepalingen is gelegen in het feit, dat de B.S.E. de veranderingen in het eiwitspectrum meet met

behulp van de erythrocyt. Hierdoor is de B.S.E. van meer variabelen afhankelijk dan de P.V., die daardoor betrouwbaarder is als indicator voor de veranderingen in het eiwitspectrum dan de B.S.E.

Hoofdstuk IV handelde over de patiëntselectie, de proefopstelling en de gebruikte methoden. Er werd uitvoerig ingegaan op de meting van de P.V. en de S.V. in de Oswald-capillairmeter. In overeenstemming met de literatuur bleek deze zeer nauwkeurig te zijn, met een bepalingsfout van $\pm 0,4\%$. Niet in overeenstemming met de literatuur vonden wij, dat de normale waarden van zowel de P.V. als van de S.V. afhankelijk zijn van de leeftijd. Er werd geen verschil tussen de normale waarden van mannen en vrouwen aangetoond.

In *hoofdstuk V* beschreven wij een onderzoek bij 60 patiënten over de relatie tussen de B.S.E. en de P.V. Tot een plasmaviscositeit van 1.80 cst. was er een significant positieve correlatie ($r\ 0.55$, $p < 0.001$). Bij patiënten met een P.V.-waarde hoger dan 1.80 cst. steeg de B.S.E. niet verder, zodat de curve een horizontaal beloop kreeg. Uit deze gegevens concludeerden wij, dat de B.S.E. een ongeschikte methode is om veranderingen in het eiwitspectrum te vervolgen bij patiënten met een P.V. hoger dan 1.80 cst. Dit zijn meestal patiënten met multiple myeloma of de ziekte van Waldenström. Een conclusie, die des te meer gerechtvaardigd is gezien ons onderzoek bij een patiënt met de macroglobulinaemie van Waldenström. Bij deze patiënt zagen wij tijdens de behandeling met plasmaferesis ondanks een aanzienlijke daling van het IgM-gehalte, geen verandering van de B.S.E.-waarde. De P.V. veranderde proportioneel met het IgM-gehalte.

Om de invloed van de haematocriet op de B.S.E. na te gaan onderzochten wij bij dezelfde groep patiënten de relatie tussen de P.V. en de B.S.E., waarbij alle bloedmonsters gecorrigeerd waren op een haematocriet van 40%. In principe gaf dit dezelfde curve als boven beschreven werd. Alleen was de spreiding van de B.S.E.-waarden aanzienlijk geringer. De berekende correlatiecoëfficiënt ($r\ 0.79$, $p < 0.001$) van de B.S.E.- en P.V.-waarden van bloed met een gecorrigeerde haematocriet en een plasmaviscositeit lager dan 1.80 cst. was veel hoger dan de correlatiecoëfficiënt van de B.S.E. en de P.V. van het bloed zonder gecorrigeerde haematocriet ($r\ 0.55$, $p < 0.001$). Dit onderzoek geeft nogmaals aan, dat de haematocriet een belangrijke variabele is voor de B.S.E.

In *hoofdstuk VI* werd een onderzoek beschreven bij 19 gezonde personen en 67 patiënten over de relatie tussen de " δV "-waarde en het fibrinogeengehalte bepaald met respectievelijk de "Claus"- en de "Weeg"-methode. In overeenstemming met de literatuur vonden wij zowel met de "Claus"- ($r\ 0.84$, $p < 0.001$) als met de "Weeg"-methode ($r\ 0.79$, $p < 0.001$) een significant positieve correlatie. De " δV "-waarde is een maat voor het fibrinogeengehalte.

Ook in overeenstemming met de literatuur vonden wij, dat de " δV "-waar-

de te hoog was bij een aantal patiënten met een paraproteïnaemie in vergelijking met het fibrinogeen gehalte, dat via twee andere methoden bepaald werd. Dit verschijnsel is te verklaren uit het feit, dat de "δV"-waarde behalve door het fibrinogeen, ook mede bepaald wordt door de viscositeit van het serum. Dit concludeerden wij o.a. uit ons onderzoek bij 40 patiënten, waar wij de relatie tussen "δV" en respectievelijk het gehalte van een aantal serum eiwitten, het totaal eiwitgehalte en de S.V. nagingen. Er werd een significant positieve correlatie tussen "δV" en S.V. gevonden ($r\ 0.60$, $p < 0.001$). Het verband tussen "δV" en S.V. is te begrijpen in het licht van het onderzoek van Jacobsson (1955), die aantoonde dat een bepaald deel van het fibrinestelsel gevormd wordt door de in het stelsel opgenomen serum eiwitten. Als richtlijn voor de praktische toepassing van de viscometrische methode voor de bepaling van het fibrinogeen gehalte, stellen wij dat deze methode goed bruikbaar is tot een serumviscositeit van 1.60 cst. Boven deze waarde wordt hij onbetrouwbaar. Deze hoge S.V.-waarden vindt men in het bijzonder bij patiënten met een hoog gehalte aan paraproteïnen.

In *hoofdstuk VII* beschreven wij bij 41 patiënten met weefselverval het onderzoek naar het verband tussen "δV" en een aantal andere "acute phase reactants". Er werd een significant positieve correlatie gevonden tussen "δV" en respectievelijk het gehalte van het α_1 -zure glycoproteïne ($r\ 0.37$, $p < 0.05$), het α_1 -antitrypsine ($r\ 0.43$, $p < 0.01$) en het haptoglobine ($r\ 0.51$, $p < 0.001$). Bij onderlinge vergelijking hadden het α_1 -zure glycoproteïne, het α_1 -antitrypsine en het haptoglobine ook een significant positieve correlatie. Verder stelden wij een significant negatieve correlatie vast tussen het albuminegehalte en respectievelijk de "δV"-waarde ($r\ -0.37$, $p < 0.05$), het α_1 -antitrypsine ($r\ -0.48$, $p < 0.01$) en het haptoglobine ($r\ -0.32$, $p < 0.05$). Evenzo tussen het transferrinegehalte en het gehalte van het α_1 -zure glycoproteïne ($r\ -0.55$, $p < 0.001$) en van het α_1 -antitrypsine ($r\ -0.49$, $p < 0.001$). Tenslotte was er een significant positieve correlatie tussen het albumine- en het transferrinegehalte ($r\ 0.55$, $p < 0.001$).

Uit deze studie mag men concluderen, dat er een samenhang bestaat tussen de stijging van het gehalte van de "acute phase reactants" en de daling van het albumine- respectievelijk transferrinegehalte. Verder blijkt dat de "δV" in de praktijk te gebruiken is als een "acute phase reactant".

In *hoofdstuk VIII* onderzochten wij bij 58 patiënten de relatie tussen de S.V. en de gedef. B.S.E. Er werd geen duidelijke samenhang gevonden, de curve is het beste als S-vormig te beschrijven. Bij vergelijking van de S.V. met de gedef. B.S.E. van bloed waar de haematocriet op 40% gecorrigeerd was, zagen wij in wezen dezelfde curve. Wel bleek ons, dat de gedef. B.S.E. na correctie in het algemeen aanzienlijk lager werd. Deze grote afhankelijkheid van de haematocriet maakt dat vooral de gedef. B.S.E.-waarden van 20 à 50 mm/uur moeilijk te interpreteren zijn.

Bij 51 patiënten met weefselverval werd nagegaan in hoeverre de gedef. B.S.E. of de S.V. een maat zijn voor het globulinen- respectievelijk het γ -globulinengehalte. Uit dit onderzoek bleek dat de gedef. B.S.E. geen vaste relatie had met het volgens de Mancini-methode bepaalde gehalte van een aantal serumeiwitten of met het electrophoretisch bepaalde γ -globulinengehalte. Ons inziens is dan ook de enige waarde van de gedef. B.S.E. een "screening" op het bestaan van een hoog γ -globulinengehalte, zoals men dat bij patiënten met multiple myeloma kan vinden. Bij deze patiënten is de gedef. B.S.E. in het algemeen hoger dan 50 mm/uur, waarbij wij moeten opmerken, dat een hoge gedef. B.S.E. (> 50 mm/uur) niet pathognomistisch is voor een paraproteïnaemie, daar wij zulke waarden ook vonden bij 4 patiënten zonder een extreem hoog γ -globulinengehalte. Het wat paradoxale verschijnsel, dat wij bij een juist boven de norm verhoogd γ -globulinengehalte geen vast verband met de gedef. B.S.E. vinden, terwijl wij bij een hoog γ -globulinengehalte in het algemeen een gedef. B.S.E. hoger dan 50 mm/uur zien, verklaarden wij uit het kromlijngige verband, dat wij tussen de gedef. B.S.E. en het IgG-, respectievelijk het IgM-gehalte aantoonde. Tot een IgG-gehalte van ca. 4000 mg/100 ml en een IgM-gehalte van ca. 1900 mg/100 ml steeg de B.S.E. nauwelijks. Bij een verdere concentratieverhoging zagen wij de B.S.E. aproportioneel hoger worden. Zijn grote afhankelijkheid van de haematocrietwaarde en het boven beschreven kromlijngige verband met het γ -globulinengehalte, maken de gedef. B.S.E. tot een onbetrouwbare bepaling om een normaal γ -globulinengehalte van een verhoogd γ -globulinengehalte te onderscheiden.

De S.V. is in tegenstelling tot de gedef. B.S.E. een goede maat voor het globulinen- respectievelijk het γ -globulinengehalte. Dit bleek uit het vinden van een significant positieve correlatie met het haptoglobine- ($r\ 0.34$, $p < 0.05$), het IgM- ($r\ 0.39$, $p < 0.05$), het IgG- ($r\ 0.67$, $p < 0.001$) en het electrophoretisch bepaalde γ -globulinengehalte ($r\ 0.78$, $p < 0.001$).

In *hoofdstuk IX* werkten wij de gelijktijdige bepaling van de plasma- en serumviscositeit uit voor de praktijk. Wij vergeleken hier o.a. bij 41 patiënten de gevoeligheid van de "acute phase reactants" om weefselverval aan te tonen. De meest gevoelige indicatoren waren het α_1 -zure glycoproteïne, het electrophoretisch bepaalde α_2 -globulinengehalte en de " δV "-waarde. Ongevoelig waren het α_1 -antitrypsine en het α_1 -globulinengehalte. Zeer ongevoelig was het haptoglobinegehalte. Verder bepaalden wij bij welke grenswaarde van de S.V. men mag zeggen, dat er een verhoogd of verlaagd γ -globulinengehalte is. Waarschijnlijk door de relatief grote bijdrage van het haptoglobine aan de S.V. ligt de grens bij patiënten met weefselverval hoger dan de bovenste normale waarden en wel bij 1.34 cst. De onderste normale S.V.-waarden zijn wel te gebruiken als grens tussen een normaal en verlaagd γ -globulinengehalte. Met bovenstaande gegevens werkten wij een schema uit voor de kliniek. Met enerzijds de " δV "-waarde als indicator voor weefselverval en voor het aantonen van een verlaagd fibrinogeen-

gehalte, en anderzijds de "S.V."-waarde als maat voor het γ -globulinengehalte zijn wij in staat 9 soorten van pathologische eiwitspectra aan te tonen. Bij toetsing van het schema op het eigen patiëntenmateriaal blijkt het te voldoen.

Als bijdrage vóór de differentiële diagnostiek kan men met de gelijktijdige bepaling van de P.V. en de S.V. de volgende veranderingen in het eiwitspectrum vaststellen:

1. Patiënten met een *normale* " δV "-waarde en een verhoogde S.V.-waarde (b.v. bij levercirrhose of een paraproteïnaemie).
2. Patiënten met een *normale* " δV "-waarde en een verlaagde S.V.-waarde (b.v. bij patiënten met een lymphatische leucaemie).
3. Patiënten met een *verhoogde* " δV "-waarde en een normale S.V.-waarde (b.v. bij patiënten met een ziekte, die gepaard gaat met weefselverval en een normaal γ -globulinengehalte).
4. Patiënten met een *verhoogde* " δV "-waarde en een verhoogde S.V.-waarde (b.v. bij patiënten met weefselverval en een verhoogd γ -globulinengehalte, zoals bij een chronische rheumatoïde arthritis).
5. Patiënten met een *verhoogde* " δV "-waarde en een verlaagde S.V.-waarde (b.v. bij patiënten met een nephrotisch syndroom of een ziekte met weefselverval, en een verlaagd γ -globulinengehalte).
- 6, 7 en 8. Patiënten met een *verlaagde* " δV "-waarde wijzend op een verlaagd fibrinogeengehalte t.g.v. een verminderde aanmaak of een verhoogde afbraak, zoals b.v. bij intravasale stolling. Deze patiënten kunnen in principe een verlaagd, normaal of verhoogd γ -globulinengehalte hebben.
9. Patiënten met een *S.V.-waarde hoger dan 1.60 cst.* t.g.v. een hoog gehalte aan paraproteïnen.

Onze *slotconclusie* is, dat de gelijktijdige bepaling van de P.V. en van de S.V. een methode is, die meer informatie geeft over de aard van de veranderingen in het eiwitspectrum dan de B.S.E. samen met de gedef. B.S.E. De " δV "-waarde is als fibrinogeenbepaling betrouwbaar uit bloedmonsters, waarvan de S.V. niet hoger dan 1.60 cst. is; in het algemeen mag men hem niet toepassen bij patiënten met een hoog paraproteïnengehalte. De " δV "-waarde is bruikbaar in de kliniek als een "acute phase reactant".

SUMMARY

In *chapter I* it is stated, that the plasma viscosity (P.V.) has received less attention than the erythrocyte sedimentation rate (E.S.R.) as a screening method for changes in the protein pattern. This in spite of the greater accuracy of the P.V. and a number of investigations in the past, which showed that the P.V. was a more reliable measure for the activity of a disease than the E.S.R.

Neither the P.V. nor the E.S.R. give information about the nature of the changes in protein pattern. It is very likely, however, that the serum viscosity (S.V.) and the defibrinated E.S.R. are measures for the globulin and γ -globulin concentration respectively. Furthermore, the difference (" δV ") between P.V. and S.V. is a measure for the fibrinogen concentration. This study is concerned with the following questions:

1. Is the nature of the changes in the protein pattern better understood by studying P.V. and S.V. than by studying the E.S.R. and the defibrinated E.S.R.?
2. Is the " δV " a useful measure for the fibrinogen concentration?
3. What is the relation between " δV " and a number of other "acute phase reactants"?

In *chapter II* a review is given about the changes in protein pattern in the different diseases with tissue injury. The changes in the concentration of the plasma proteins produced by the liver are caused by liver reaction on tissue injury. Changes in γ -globulin concentration are not primarily a direct consequence of tissue injury, but they are caused by the reticulo-endothelial system reacting on the presence of an antigen.

In *chapter III* the theoretical background of the E.S.R. and the P.V. is discussed. The most important difference between these two methods is the fact that the E.S.R. registers the changes in protein pattern in the presence of the erythrocytes and the P.V. does not. The E.S.R. depends upon more variables than the P.V. and for this reason the P.V. is a better parameter for changes in the protein pattern than the E.S.R.

Chapter IV deals with the selection of the patients, the experimental set-up and the methods used in this study. The determination of the P.V. and the S.V. with the Oswald viscometer is fully discussed. In accordance with the literature, it was found to be a highly accurate method with an error of about 0.4%. In contrast with the results of other authors it was noticed that the normal values of the P.V. and the S.V. are age dependant. There were no differences in the normal values between men and women.

In *chapter V* the results of the relation between the E.S.R. and the P.V. in 60 patients are described. Up to a plasma viscosity of 1.80 cst. there was a significant positive correlation between E.S.R. and P.V. ($r\ 0.55$, $p < 0.001$). In patients with a plasma viscosity higher than 1.80 cst. no further rise of the E.S.R. was noticed. These data justify the conclusion that the E.S.R. is a poor screening method for changes in protein pattern in patients with a high plasma viscosity (higher than 1.80 cst.). Usually these patients suffer from multiple myeloma or macroglobulinemia. This phenomenon was clearly demonstrated in a patient with macroglobulinemia during treatment with plasmapheresis. In spite of a considerable reduction of the IgM-concentration no change of the E.S.R. value was observed. The change in P.V.-value was proportional to the IgM-concentration.

In the same 60 patients the influence of the haematocrit on the relation between the P.V. and the E.S.R. was studied. All blood samples were corrected to a haematocrit of 40%. The same relationship existed between the P.V. and the E.S.R., when a haematocrit correction was applied, however the variation in the E.S.R. values was much less. If blood samples with a haematocrit corrected to 40% were used the correlation coefficient between the E.S.R. and the P.V. for patients with a plasma viscosity less than 1.80 cst. was much higher ($r\ 0.79$, $p < 0.001$, compared with $r\ 0.55$, $p < 0.001$ if no correction was made). This investigation has shown that the haematocrit influences the E.S.R.

Chapter VI describes the relation between the “ δV ”-value and the fibrinogen concentration determined with the “Clauss”- and a “Weight”-method; 19 controls and 67 patients were studied. In accordance with the literature a significant positive correlation was found between “ δV ” and the fibrinogen concentration determined either with the “Clauss”- ($r\ 0.84$, $p < 0.001$) or the “Weight”-method ($r\ 0.79$, $p < 0.001$). It is concluded that the “ δV ”-value is a reliable measure for the fibrinogen concentration.

In addition it is found that in patients with paraproteinemia the fibrinogen concentration determined with the viscometric method is too high compared with values found by using the two other methods. This difference is caused by the influence of serum viscosity on “ δV ”-value as is concluded from a study in 40 patients on the relation between “ δV ” and the concentration of a number of

120

serum proteins, the total protein mass and the serum viscosity. A significant positive correlation was found between " δV " and S.V. (r 0.60, $p < 0.001$). No significant positive correlation was demonstrable between " δV " and the other parameters. As a routine procedure the viscometric method for fibrinogen determination can be used for all blood samples with a serum viscosity lower than 1.60 cst. When the S.V. is higher than 1.60 cst. the viscometric method is unreliable. This is usually the case in patients with a high paraprotein concentration.

In *chapter VII* the relationship between " δV " and a number of other acute phase reactants were studied in 40 patients with tissue injury. A significant positive correlation between " δV " and respectively α_1 -acid glycoprotein (r 0.37, $p < 0.05$), α_1 -antitrypsin (r 0.43, $p < 0.01$) and the haptoglobin concentration (r 0.51, $p < 0.001$) was found. There was also a significant positive correlation between α_1 -acid glycoprotein and respectively α_1 -antitrypsin and haptoglobin, and between α_1 -antitrypsin and haptoglobin. A *significant negative correlation* exists between the albumin concentration and respectively the " δV "-value (r - 0.37, $p < 0.05$), the α_1 -antitrypsin (r - 0.48, $p < 0.01$) and the haptoglobin concentration (r - 0.32, $p < 0.05$). The same negative correlation was noticed between the transferrin concentration and respectively the α_1 -acid glycoprotein (r - 0.55, $p < 0.001$) and α_1 -antitrypsin concentration (r - 0.49, $p < 0.001$). The correlation between the albumin and the transferrin concentration was significant positive (r 0.55, $p < 0.001$).

From the study it has been concluded that a connection exists between the rise in concentration of the acute phase reactants and the fall in concentration of respectively the albumin and transferrin. Furthermore the " δV "-value can be used as an acute phase reactant in clinical practice.

Chapter VIII deals with the investigation on the relation between the defibrinated E.S.R. and the S.V. in 58 patients. No relation between these two parameters was found. The same lack in correlation was noticed between the S.V. and the defibrinated E.S.R. using the same blood samples corrected to a haematocrit of 40%. Furthermore it was evident that the defibrinated E.S.R. after haematocrit correction was in general much lower than the original defibrinated E.S.R. A correct interpretation of defibrinated E.S.R. values from 20 to 50 mm/hour is therefore not possible.

In 51 patients with a tissue injury disease the defibrinated E.S.R. and the S.V. as a measure for the globulin and γ -globulin concentration was investigated. It was found that the defibrinated E.S.R. had no certain relation with one of the serum protein concentrations measured with the Mancini method or with the electrophoretic determined γ -globulin concentration. From these findings one may conclude that by measuring the defibrinated E.S.R. one can only screen for

the presence of a high γ -globulin concentration, such as can be found in patients with a multiple myeloma. In these patients a defibrinated E.S.R. higher than 50 mm/hour was found. Such a high value is however not pathognomonic for a paraproteinemia, since a high defibrinated E.S.R. (>50 mm/hour) was measured in 4 patients without an extremely high γ -globulin concentration. Using diluted serum of two patients with respectively an IgG- and IgM-paraproteinemia a non-linear relationship between the paraprotein concentration and the defibrinated E.S.R. was found. In a patient with the IgG-paraproteinemia a slow rise in defibrinated E.S.R. to an IgG-concentration of 4.000 mg/100 ml was noticed. This was followed by a rise in defibrinated E.S.R. which was in no proportion to the increase in IgG-concentration. In the patient with the IgM-paraproteinemia the same phenomenon at an IgM-concentration of 1900 mg/100 ml was seen. These findings are compatible with the fact that patients with a γ -globulin concentration just above the normal value have an unpredictable and often low defibrinated E.S.R. (<10 mm/hour) and patients with a high γ -globulin concentration have a very high defibrinated E.S.R. (>50 mm/hour). The conclusion is that the defibrinated E.S.R. is an unreliable measure for the γ -globulin concentration, because of its dependence upon the haematocrit and because of the non-linear relationship between the defibrinated E.S.R. and the γ -globulin concentration.

In contrast with the E.S.R. the serum viscosity is a reliable measure for the globulin and γ -globulin concentration. A significant positive correlation between the S.V. and respectively the haptoglobin ($r\ 0.34$, $p < 0.05$), the IgM ($r\ 0.39$, $p < 0.05$) and the IgG ($r\ 0.67$, $p < 0.001$) and the electrophoretic determined γ -globulin concentration ($r\ 0.78$, $p < 0.001$) was found.

In *chapter IX* the value of the simultaneous determination of the P.V. and the S.V. is discussed. In 41 patients with a tissue injury disease the sensitivity of the different acute phase reactants as a parameter for tissue injury was studied. The most sensitive parameters appeared to be the α_1 -acid glycoprotein, the " δV "-value and the electrophoretic determined α_2 -globulin concentration. The changes in α_1 -globulin and α_1 -antitrypsin concentration were less sensitive parameters for tissue injury, the haptoglobin concentration is an unsensitive parameter. Furthermore the minimum value of the S.V. for a reduced or an increased γ -globulin concentration was measured. In patients with tissue injury and an increased γ -globulin concentration this limit value is higher than the normal S.V.-value (1.34 est.). This rise in minimum value is probably caused by the relatively large contribution of haptoglobin to the S.V. In patients without tissue injury this limit value is the highest normal S.V.-value. In both groups of patients with or without tissue injury the lowest S.V.-value is serving as a limit for a reduced γ -globulin concentration.

With the " δV "-value as a parameter for tissue injury and the S.V. as a parameter for the γ -globulin concentration it is possible to detect 9 different patho-

logic protein patterns. These are:

1. Patients with a *normal* " δV "-value and an increased S.V.-value (patients with a livercirrhosis or a paraproteinemia).
2. Patients with a *normal* " δV "-value and a decreased S.V.-value (patients with a lymphatic leucaemia).
3. Patients with an *increased* " δV "-value and a normal S.V.-value (patients with a tissue injury disease and a normal γ -globulin concentration).
4. Patients with an *increased* " δV "-value and an increased S.V.-value (patients with a rheumatoid arthritis).
5. Patients with an *increased* " δV "-value and a decreased S.V.-value (patients with a nephrotic syndrome).
- 6, 7 and 8. Patients with a *decreased* " δV "-value, this indicates a decreased fibrinogen concentration as a result of a decreased synthesis (livercirrhosis) or an increased catabolism (deffiminated intravascular coagulation). These patients may have a decreased, normal or increased γ -globulin concentration.
9. Patients with a S.V.-value *higher than 1.60 centistokes* as a result of a high paraprotein concentration.

Final conclusions

The simultaneous determination of the P.V. and the S.V. gives a better information about the nature of the changes in protein pattern than the simultaneous determination of the E.S.R. and the defibrinated E.S.R. The " δV "-value is a measure for the fibrinogen concentration. This value is unreliable however with a serum viscosity higher than 1.60 centistokes. The " δV "-value may be used as an acute phase reactant.

LITERATUURLIJST

- ALEXANDER M.E. (1924): Clinical and experimental observations on bloodsedimentation.
Med. J. and Res. 119 : 524.
- 't ANG B.H. and WANG (1940, geciteerd uit Lawrence 1950):
Chin. Med. J. 37 : 546.
- BACHMANN W., WEISS M.E. und RAPP W. (1968): Differenzierte quantitative Serum-
eiweiss Bestimmungen im Ablauf der Herzinfarktes.
Schweiz. Med. Wochenschrift 46 : 1825.
- BAYLISS L.E. (1958): Flow properties of Blood.
A.L. Copley and G. Stanisly, ed. Pergamon Press New York, p. 29.
- BELFRAGE S. (1963): Plasma protein patterns in the course of acute infection disease.
Acta Med. Scand.: suppl. 395.
- BENDIEN W.M., NEUBERG J. and SNAPPER I. (1932): Beitrag zur Theorie der Senkungs-
geschwindigkeit der roten Blutkörperchen.
Biochem. Z. 247 : 306.
- BERCZELLER L. and WASTL H. (1923): Über die Wirkung des Schütteln auf die Senkung
des roten Blutkörperchen.
Biochem. Z. 143 : 333.
- BLIX G. (1939): Quantitative Bestimmung von elektrophoretisch getrennter Serumglobulin.
Zeitschr. für ges. Exper. Med. 105 : 595.
- BÖTTIGER L.E. and SVEDBERG C.A. (1967): Normal erythrocyte sedimentation rate and
age.
Brit. Med. J. 2 : 85.
- BRACKENRIDGE C.J. and CSILLAG E.R. (1962): A quantitative electrophoretic survey of
serum proteinfractions in health and disease.
Acta Med. Scand.: suppl. 383.
- CARTWRIGHT G. and WINTROBE H. (1949): Chemical, clinical and immunological stu-
dies on products of human plasma fractionation, anaemia of infections, studies on
iron binding capacity of serum.
J. of Clin. Invest. 28 : 86.
- CLARKE H.G.M. and FREEMAN T. (1968): Quantitative immunoelectrophoresis of human
serum proteins.
Clin. Sci. 35 : 403.
- CLARKE H.G.M., FREEMAN T. and PRYSE-PHILLIPS W.E.M. (1970A): Serum protein
changes in Stills' disease, rheumatoid arthritis and gout.
The British J. of exp. pathol. Vol. L, No. 5 : 41.
- CLARKE H.G.M., FREEMAN T., HICKMAN E., PRYSE-PHILLIPS W.E.M. (1970B): Quan-
titative immunoelectrophoretic analysis in patients with tuberculosis and sar-
coidosis.
Thorax 25 : 423.

- CLARKE H.G.M., FREEMAN T. and PRYSE-PHILLIPS W.E.M. (1971): Serum protein changes after injury.
Clin. Sci. 40 : 337.
- CLAUSS A. (1957): Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogen.
Acta haematolog. XVII : 237.
- CLEVE H. und BEHREND T. (1966): Quantitative immunologische Bestimmung des sauren α_1 -Glycoproteins und des α_1 -Antitrypsin bei Patienten mit chronische Gelenkrheumatismus.
Zeitschrift für Rheumaforsch. 25 : 278.
- COWAN I., HARKNESS J. (1947): The plasma viscosity in rheumatic disease.
Brit. Med. J. 1 : 686.
- CROCKSON R.A., PAYNE C.J., RATCLIFF A.P., SOOTHILL J.F. (1966): The sequence of acute phase reactive proteins following surgical trauma.
Clin. Chim. Acta. 14 : 435.
- CUNNINGHAM E. (1910, geciteerd uit Thygesen 1942): On the velocity of steady fall of spherical particles through fluid medium.
Proc. Roy. Soc. (London) Ser. A. 83 : 357.
- DINTENFASS L. (1965): Some observations on the viscosity of pathological human blood plasma.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 13 : 492.
- EASTHAM R.D. (1954): The erythrocyte sedimentation rate and the plasma viscosity.
J. Clin. Path. 7 : 164.
- EASTHAM R.D. (1957): Red cell factors and the erythrocyte sedimentation rate.
Acta Med. Scand. CL VIII, fasc. 5 : 375.
- FAHREUS R. (1921): On the suspension stability of the blood.
Acta Med. Scand. 55 : 1.
- GELL P.G.H. and COOMBS R.R.A. (1968): Clinical aspects of immunology 2^o edition.
Blackwell scientific Publications of Oxford and Edinburgh.
- GERSH I. and CATCHPOLE H.R. (1949, geciteerd uit Owen 1967).
Am. J. Anat. 85 : 457.
- GIBSON B. (1949): Observations on the relative viscosity of bloodplasma in comparison with other bloodtests on the rheumatic disease.
Proc. of the Royal Soc. of Med. 42 : 734.
- GORDON C.M. and WARDLEY (1943): The effect of the plasma proteins upon the sedimentation rate of human blood.
Biochem. J. 37 : 393.
- GRAM H.C. (1921): A new method for the determination of the fibrin percentage in blood and plasma.
J. Biol. Chem. 49 : 279.
- GRAM H.C. (1928): Über die Correction der Senkungsreaktion für den Einfluss des Zellvolumenprocentes (Haemoglobin) und über die normalen Grenzen der Senkungsreaktion.
Acta Med. Scand. 68 : 108.
- GROEN A.S. (1953): Over de bezinkingssnelheid der rode bloedlichamen in gedefibrineerd bloed.
Dissertatie – Amsterdam.
- HARDWICKE J. and SQUIRE J.R. (1952): The basis of the erythrocyte sedimentation rate.
Clin. Sci. 11 : 333.

- HARKNESS J., HOUSTON J., WHITTINGTON R.B. (1946): Plasma viscosity: a clinical test.
Brit. Med. J. 1 : 268.
- HARKNESS J. (1963): A new instrument for the measurement of plasma viscosity.
Lancet ii : 280.
- HASCHE E. (1954, geciteerd uit Ruhenstroth-Bauer 1962):
Ärztliche Forschung 8 : 260.
- HEDLUND P. (1961): Clinical and experimental studies on C-reactive protein (acute phase protein).
Acta Med. Scand. Suppl. 361 : blz. 7.
- HEINRICH R.A. (1963, geciteerd uit Somer 1966): Cryofibrinogen: formation and inhibition in heparinized plasma.
Am. J. Physiol. 204 : 419.
- HELLENDORF H.B.A. en GERBRANDY J. (1961): Het verband tussen viscositeit en eiwitbestanddelen in plasma en serum, in het bijzonder met betrekking tot fibrinogeen.
Ned. Tijdschrift van Gen. 105 : 198.
- HESS E.L. and COBURE (1950): The intrinsic viscosity of mixed protein systems including studies of plasma and serum.
J. Gen. Physiol. 33 : 511.
- HOUSTON J., WHITTINGTON R., COWAN I., HARKNESS J. (1949): The plasma viscosity in pulmonary tuberculosis and rheumatic diseases.
J. Clin. Invest. 28 : 752.
- JACOBSSON K. (1955): Studies on fibrinogen 1: Studies on the determination of fibrinogen in human blood plasma.
Scand. J. Clin. and Lab. Invest. Suppl. 14 : 7.
- JAHNKE K., SCHOLTAN W., HEINZLER F. (1958): Die Viskosität von Serum und isolierte Serumproteinen bei Makroglobulinaemiën und andere Dys- und Paraproteinaemiën.
Helvetica Med. Acta 25 : 2.
- JARNUM S. (1961): Albumin and transferrin metabolism in infections and toxic diseases.
Scand. J. of Clin. and Lab. Invest. 13 : 357.
- KALFF M.W. (1969): Genetic and environmental influences on serum immunoglobulin levels in man.
Dissertatie - Leiden.
- KAMPEN van E.J. and ZIJLSTRA W.G. (1961): Standardisation of hemoglobinometry.
I The hemoglobincyanide method.
Clin. Chim. Acta, 6 : 538.
- KELVEY Mc.E. (1965): Immunoglobulin changes in disease: Quantitation on the basis of heavy polypeptide chains IgG, IgA and IgM and of light polypeptide chains type K (I) and type L (II).
J. of Clin. Invest. 44 : 1778.
- KOCHWA S., SMITH E., BROWNELL M. (1966): Aggregation of IgG in vivo II: Physico-chemical properties of the isolated protein.
Biochemistry 5 : 277.
- KRAEMER E.O. (1938, geciteerd uit Hess 1950):
Ind. Eng. Chem. 30 : 1200.
- KRUYT H.R. Colloid Science.
Volume I: irreversible systems (1952).
Volume II: reversible systems (1949).
Elsevier Publishing Company - Amsterdam.

- LAWRENCE J.S. (1950): The plasma viscosity
Brit. J. Clin. Path. 3 : 332.
- LAWRENCE S.H. (1961): Effect of corticosteroid administration on the serum electrophoretic patterns of patients with pulmonary tuberculosis.
J. Lab. and Clin. Med. 57 : 388.
- LINKO E., WARIS E. and ALOKOSKI H.A. (1956): Plasma protein changes and their influences on the erythrocyte sedimentation rate in myocardial infarction.
Acta Med. Scand. 153 : 389.
- LISTER J. (1858, geciteerd uit Thygesen 1942):
Phil. Trans. Royal Soc. (London), p. 645.
- MAC. FARLANE R.G. (1962): The reactions of the blood to injury.
In General Pathology 3^o ed. H.W. Florey editor. London - Lloyd - Luke pp: 197 en 216.
- MANCINI G., CARBONARA A.O. and HEREMANS J.E. (1965): Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochem. 2 : 235.
- MAYER H. and KISS (1965): Blood viscosity and in vitro anticoagulants.
Am. J. Physiol. 208 (4) : 795.
- MERRILL E.W. and WELLS R.E. jr. (1961):
Applied Mech. Rev. 14 : 663.
- MILLER A.K. and WHITTINGTON R.B. (1942): Plasma viscosity in Pulmonary Tuberculosis.
Lancet ii : 510.
- MILLER L.L., BALE W.F. (1954): Synthesis of all plasma protein fractions except gamma-globulins by the liver.
J. Exp. Med. 99 : 125.
- MILLER L.L., BLY C.G., BALE W.F. (1954): Plasma and tissue proteins produced by non-hepatic rat organs as studied with lysine C¹⁴.
J. Exp. Med. 99 : 133.
- MORRISON P. (1947): Preparation and properties of serum and plasma proteins XV. Some factors influencing the quantitative determinations of Fibrinogen.
J. Am. Chem. Soc. 69 : 2723.
- NASSE H. (1836, geciteerd uit Thygesen 1942): Das Blut in mehrfacher Beziehung physiologisch und pathologisch untersucht. - Bonn.
- NILSSON A.L. (1968): C-reactive protein in apparently healthy individuals (blood donors) related to age.
Acta Path. Microb. Scand. 73 : 619.
- NISHIHARA H. (1959): Serial determinations of serum glycoproteins and proteins in the early stages of experimental tuberculosis.
J. Lab. and Clin. Med. 54 : 257.
- NORBERG R. (1967): The immunoglobulin content of normal serum.
Acta Med. Scand. 181 : 485.
- NYMAN MARG. (1959): Serum haptoglobine. Methodological and clinical studies.
Scand. J. of Clin. and Lab. Inv. 10: suppl. 39.
- ODENTHAL H. (1958, geciteerd uit Belfrage 1963): Entzündung und Bluteiweisskörper.
Stuttgart, Thieme.
- ONCLEY J.L., SCATCHARD G. and BROWN A. (1947): Physical-chemical characteristics of certain of the proteins of normal human plasma.
J. Physic and Coll. Chem. 51 : 184.

- ÖSTNER K. (1942): Studien über die Heparinblutsenkungsreaktion und Heparin-Citrat Blutsenkungsreaktion.
Acta Med. Scand. suppl.: CXXVII.
- OWEN J.A. (1967): Effect of injury on Plasma Proteins.
Advances of Clin. Chem. 9 : 2.
- PETERSEN W.P. (1953): The viscometric determination of bloodfibrinogen.
J. Lab. and Clin. Med. 42 : 641.
- RADOSAVLJEVIC A. (1932): La sedimentation des hematics dans les icteres.
Progrès Medical : 1750.
- RICE E.W. (1960): Correlation between serum copper, ceruloplasmine activity and C-reactive protein.
Clin. Chim. Acta 5 : 632.
- RICE E.W. (1961): A study on correlations between C-reactive protein and certain other acute phase reactants.
Clin. Chim. Acta 6 : 170.
- ROPES M.W., PERLMANN G.E., KAUFMANN D. and BAUER W. (1954): The electrophoretic distribution of proteins in plasma in rheumatoid arthritis.
J. of Clin. Inv. 33 : 311.
- ROURKE M.D. (1930): A method for correcting the erythrocyte sedimentation rate for variation in the cell volume percentage of blood.
J. of Clin. Inv. 8 : 545.
- ROURKE M.D. and PLASS D.E. (1929): An investigation of various factors which affect the sedimentation rate of the red blood cells.
J. of Clin. Inv. 7 : 365.
- RUHENSTROTH-BAUER J., BRITTINGER J., GANZER E., NASS G. (1960): Der Mechanismus und die Bedeutung der Blutkörperchensenkung.
Deutsch. Med. Wschr. 85 : 808.
- RUHENSTROTH-BAUER J., NASS G. (1961): Die experimentelle Erzeugung einer beschleunigten Blutkörperchensenkung beim Kaninchen.
Blut, Zeitschrift für Blutforschung: Band VII: 193.
- RUHENSTROTH-BAUER J. (1962): Der Mechanismus der Blutkörperchensenkung. VII Mitteilung. Zur chemie der Agglomerine.
Klin. Wschr. 40 : 1200.
- SANDXÜHLER S.T. (1958): Über Kryogelproteinämie.
Schweiz. Med. Wschr. 88 : 1034.
- SCHUHMACHER G., SCHLUMBERGER H.D. (1962): Eigenschaften, Bestimmungen und klinischen Bedeutung von Haptoglobin.
Klin. Wschr. 40 : 67.
- SCHULZ F.H. (1951): Der Fibringehalt des Blutplasmas in den verschiedenen Alterstufen.
Zeitschrift für Altersforschung V : 192.
- SCHULZE H.E., HEREMANS J.E. (1966): Molecular biology of human proteins. Vol. I. Nature and metabolism of extracellular proteins.
Elsevier Publishing Company.
- SCHWICK H.G., STORIKO K. (1965): Ergebnisse der quantitativen immunologischen Bestimmung von Human-Plasmaproteinen.
Proc. 10th Congr. Europ. Soc. Haemat.-Strasbourg 1965: part 11, pp. 899-905 (Karger, Basel/New York 1967).
- SEIBERT F.B., SEIBERT M.V., ATNO A.J. and CAMPBELL H.W. (1947): Variation in protein and polysaccharide content of sera in chronic diseases, tuberculosis, sarcoidosis and carcinoma.
J. of Clin. Inv. 26 : 90.

- SHEARN M.A., EPSTEIN W., ENGLEMAN E.P. (1963): Serum viscosity in rheumatic diseases and macroglobulinemia.
Arch. of Int. Med. 112 : 684.
- SHETLAR M.R., PAYNE R.W., PADRON J. (1956): Objective evaluation of patients with rheumatic disease.
J. Lab. and Clin. Med. 48 : 194.
- SOMER T. (1966): The viscosity of blood, plasma and serum in dys- and paraproteinemias.
Acta Med. Scand. suppl. 456 I.
- STAUDINGER H. and HEUER H. (1934, geciteerd uit Kruyt 1952):
Z. Physic. Chem. A 171 : 129.
- STAUDINGER H. (1932, geciteerd uit Kruyt 1952): Grenzkonzentration.
Die hochmolekularen organischen Verbindungen, Berlin 1932.
- STEEL A.E. (1959): The viscosity of macroglobulin and euglobulin solutions.
Clin. Chim. Acta 4 : 503.
- STEINMANN B. (1964): Über Beziehungen zwischen Cholesterin und Fibrinogengehalt, Thromboemboliën und Atherosclerose.
Gerontologia 10 : 100.
- SWEDIN B. (1936, geciteerd uit Thygesen 1942): Untersuchungen über den Aggregationsmechanismus der Erythrozyten.
Dissertatie Stockholm.
- TANFORD C. (1966): Physical chemistry of macromolecules.
John Wiley and Sons, inc. New York.
- TILLET W.S. and FRANCIS T. (1930): Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus.
J. Exp. Med. 52 : 561.
- THYGESEN J.E. (1942): The mechanism of blood sedimentation.
Acta Med. Scand. Suppl. CXXXIV.
- TOMASI T.B. (1965): Human Gamma Globulin.
Blood 25 : 382.
- WALDENSTRÖM J. (1944): Inceipient myelomatosis or "essential" hypergammaglobulinemia with fibrinogenopenia — a new syndrome —.
Acta Med. Scand. 117 — 216.
- WALDENSTRÖM J. (1952). Abnormal protein in myeloma.
In Advances in Internal Med.
Vol V. Ed. by W. Dach and I. Snapper.
The Yearbook publish. inc. Chicago 1952 pag. 398.
- WELLS R.E., MERILL E.W., GABELINCK H. (1962): Shear rate dependence of viscosity of blood. Interaction of red cells and plasma proteins.
Trans. of the Soc. of Rheology VI : 19.
- WERNER M., ODENTHAL D. (1967): Serum protein changes after gastrectomy, as a model of acute phase reaction.
J. Lab. and Clin. Med. 70 : 302.
- WITAS L. (1957): L'électrophorèse sur papier dans l'infarctes de myocarde.
Rev. Path. Gen. 57 : 285.
- WOODMANSEY A. (1948): A method for measuring plasma viscosity and a comparison of plasma viscosity with bloodsedimentation in rheumatoid arthritis.
Ann. Rheum. Disease 7 : 235.
- ZARDAY J. and FARKUS L. (1931, geciteerd uit Thygesen 1942): Quantitative Beziehungen zwischen Plasmaeiweissfraktionen und Blutsenkung.
Z. Ges. Exp. Med. 78 : 867.

NASCHRIFT

Een ieder die Prof. dr. J. Gerbrandy kent, weet dat de in deze studie verrichte experimenten geheel in de lijn van zijn denken liggen. Hij is immers de man, die enthousiast is voor het zeer basale klinische onderzoek. Het is dan ook te begrijpen, dat hij zich vanaf de eerste publicaties over de plasmaviscositeit aange trokken voelde tot deze zo nauwkeurige en eenvoudige bepaling. Aan deze belangstelling van hem voor de plasmaviscositeit heb ik het ook in de eerste plaats te danken, dat dit proefschrift in betrekkelijk korte tijd tot stand gekomen is. De vraagstelling en de benodigde apparatuur, dit laatste vooral dankzij vele reizen en inspanning van dr. W.F. Wiltink, waren daardoor aanwezig bij het begin van dit onderzoek. Behalve als stimulator wilde ik Prof. dr. J. Gerbrandy ook danken voor zijn zo uiterst realistische begeleiding bij het uitwerken van de experimentele gegevens en het schrijven van het proefschrift.

Ook wil ik dr. W.F. Wiltink danken voor zijn reeds genoemde voorbereidende werk en zijn ter zake doende opmerkingen over het geschreven product.

Mijn tweede promotor, dr. H.G. van Eyk, is voor mij in deze tijd een tweede geweten geweest. Daar ik in aanleg gemakzuchtig ben, heeft hij mij vele malen gered van een te grote oppervlakkigheid. Behalve voor deze reddingen wil ik hem ook danken voor de plezierige wijze waarop hij dit onderzoek vooral van chemische zijde begeleid heeft.

Van grote betekenis zijn voor mij de contacten met Prof. dr. H. Valkenburg geweest. Hij is degene geweest, die mij geholpen heeft om een chaotische hoeveelheid getallen om te werken tot ordelijke tabellen en figuren. Ook voor zijn kritische commentaar wil ik hem danken.

De belangrijkste vrouw op de achtergrond van dit onderzoek is Mevrouw P.C.M. van Wijngaart geweest. Alle bepalingen zijn op uiterst nauwkeurige wijze door haar verricht. Het is zeker dat zonder haar inzet dit onderzoek niet tot stand gekomen was.

Ook Mej. C. Swaab heeft als in zo vele dissertaties uit onze kliniek haar stempel op dit werk gezet met het maken van de vele tekeningen. Hiervoor wil ik haar danken.

Een speciaal dankwoord wil ik richten aan Mevrouw T. de Kock en Mej. J. Roest die het ondankbare werk op zich hebben genomen om dit zo dorre werk in vele versies uit te typen. Ik heb de grootste bewondering voor het geduld waarmee zij dit hebben gedaan.

Bij het overbruggen van de vele dieptepunten, die het leven van een jonge wetenschappelijke onderzoeker kenmerkt, ben ik door een aantal mensen geholpen. Zo wil ik hier danken Prof. Loeliger en Prof. J. Birkenhäger voor de tijd die ze aan mij besteed hebben. In deze perioden zijn vooral mijn naaste vrienden uit de kliniek met hun spot een belangrijke steun geweest. Daadwerkelijk heeft ook dr. Lameyer mij geholpen bij het vertalen van de samenvatting in het Engels. Op deze plaats wil ik ook een dankwoord richten aan dr. E. van Leer, die door zijn persoonlijke inzet mij zo veel praktisch klinische kennis heeft bijgebracht, dat ik één jaar van mijn opleiding kon verspelen aan wetenschappelijke arbeid.

Zoals een ieder weet die een proefschrift geschreven heeft, zijn de stille lijders van dit schrijven te vinden in het huisgezin van de promovendus. Ik denk dan aan mijn vrouw en kinderen. Zij moeten immers zijn slechte humeur verdragen bij de teleurstellingen die hij tijdens het onderzoek ondervindt. Mijn belangrijkste teleurstelling was eigenlijk de ontdekking dat na al de gezamenlijke inspanning de uiteindelijke bijdrage aan de medische wetenschappelijke ontwikkeling zo bijzonder klein is. Wereldprimeurs worden maar zelden geboren.

CURRICULUM VITAE

De schrijver van deze studie werd geboren op 15 oktoberr 1940 te Medan in Indonesië. In 1958 behaalde hij het diploma H.B.S.-B aan de Dalton H.B.S. te Rotterdam. In juni 1966 legde hij met goed gevolg het artsexamen af in Leiden. Op 5 september 1966 begon hij met zijn specialisatie tot internist in het Militair Hospitaal "Oog en Al" te Utrecht bij dr. van Belle. Na het beëindigen van zijn militaire dienst werd zijn opleiding vanaf 1 januari 1968 voortgezet op de afdeling voor inwendige ziekten van Prof. dr. J. Gerbrandy in het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt te Rotterdam. Op 5 september 1971 werd hij als internist in het specialistenregister ingeschreven. Momenteel is hij werkzaam als chef de clinique aan bovengenoemde afdeling.